أجهزة التحليل

الطيفي والكروماتوجرافي

SPECTROSCOPIC & CHROMATOGRAPHIC
INSTRUMENTS

ا لأستاذ الدكتور

أحمد خميس محمد سلامة

قسم كيمياء المبيدات
كلية الزراعة – جامعة الإسكندرية

مكتبة بستان المعرفة

طباعة ونشر وتوزيع الكتب

☎: ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨ & ٠١٢١١٥١٢٣٧

العنوان	اجهزة التحليل الطيفي والكروماتوجرافي
اسم المؤلف	أ.د. احمد خميس محمد سلامة
رقم الإيداع	١٨٥٠٩/ ٢٠٠٥
الترقيم الدولى	I.S.B.N 977-393- 043- 2
الناشر	مكتبة بستان المعرفة كفر الدوار - الحدائق - ٦٧ ش الحدائق بجوار نقابة التطبيقيين ☎ : ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨ الإسكندرية ٠١٢٣٥٣٤٨١٤ & ٠١٢١١٥١٢٣٧

أجهزة التحليل الطيفي
والكـــــروماتوجرافي



إهداء

الى والدي ووالدتي يرحمهما الله

إلى زوجتي الحبيبة وأبنائي الأعزاء محمد ومهاب

إلى أساتذتي الأفاضل وزملائي الأعزاء بقسم كيمياء وسمية المبيدات

بكلية الزراعة – جامعة الإسكندرية

الى بلدي الحبيبة مصر

مقدمة

بسم الله والصلاة والسلام على أشرف الخلق سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

أتشرف بتقديم هذا العمل المتواضع عن أجهزة التحليل الطيفي والكروماتوجرافي حيث حاولت جاهدا تبسيط هذا الأمر وكتابته باللغة العربية وبأسلوب سهل وميسر حتى يستطيع الدارس المبتديء والقاريء المطلع فهم العلاقة بين المادة والطيف وكذا عمليات التحليل الطيفي والكروماتوجرافي والأساس العلمي الذي يتوقف عليه استخدام كل جهاز من هذه الأجهزة ، وحاولت شرح كل مكون من مكونات هذه الأجهزة من ناحية موقعه في الجهاز ووظيفته وكذلك وظيفة الجهاز ككل والغرض من استخدامه في عمليات التحليل سواء كان تحليلا وصفيا أو كميا وكذلك التعرف على التراكيب الكيميائية للمركبات العضوية ، كما تم شرح كيفية تفسير النتائج التي نحصل عليها من كل جهاز بطريقة سهلة يبدأ على أساسها الطالب والباحث قراءة وفهم المراجع المتقدمة في هذا المجال.

ومن أهم أجهزة التحليل الطيفي التي تم استعراضها في هذا الكتاب جهاز التحليل الطيفي باستخدام الأشعة المرئية وفوق البنفسجية وتحت الحمراء وجهاز الرنين النووي المغناطيسي وجهاز مطياف الكتلة وأخيرا جهاز الامتصاص الذري للعناصر. وأيضا تم استعراض أجهزة التحليل الكروماتوجرافي مثل جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز وجهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل ، كما تم التعرض لعمليات التحوير والاشتقاق الكيميائي لبعض المركبات العضوية للتغلب على بعض مشاكل التحليل الخاصة بها، كما تم إلقاء الضوء على أهمية هذه العمليات الكيميائية مع أعطاء بعض الأمثلة التوضيحية. وأخيرا تم استعراض الازدواج بين أجهزة التحليل الكروماتوجرافي وجهاز مطياف الكتلة وكيف أمكن التوافق بين هذه الأجهزة رغم اختلاف ظروف تشغيل كل منها مع القاء الضوء عن أهمية مثل هذه الأجهزة في تقدير الملوثات في البيئة.

واتمنى من الله العلي القدير أن يكون هذا العمل خالصا لوجه الله وعونـا لأبنـائي
ـني الطلاب في فهم طبيعة التحاليل الكيميائية وكيفية استخدامها في أغراض التعرف
ـركبات الكيمائية وتقديرها بطريقة نوعية أو كمية.

والله ولي التوفيق

يناير ٢٠٠٦

الفصل الأول

التداخل بين الطيف والمادة

Interaction of light with matter

مقدمة:

تعتمد كل أجهزة التحليل الطيفي Spectroscopic instruments على التداخل بين المادة المراد تحليلها والضوء، حيث نجد أنه عند تسليط شعاع كهرومغناطيسي على المادة فانه يحدث تغيرات عديدة في جزيئات المادة تتوقف على طاقة الشعاع وطبيعة المادة المراد تحليلها، وعلى ذلك تم تصميم العديد من الأجهزة التي يمكن استخدامها في الكشف عن تلك المواد على أساس التغيرات التي تحدث لها نتيجة تداخلها مع الشعاع الكهرومغناطيس عند أطوال موجية معينة.

وتعتمد معظم الطرق الطبيعية للدراسات الكيميائية على التداخل بين المادة والاشعاعات الكهرومغناطيسية electromagnetic radiation بأطوالها المختلفة وتمثل الاشعاعات الكهرومغناطيسية احدى صور الطاقة الضوئية والتي تتصف بخصائص موجية وأخرى حبيبية wave and particle properties

الخصائص الموجية Wave properties للشعاع الكهرومغناطيسي:

الشعاع الكهرومغناطيس ليس شعاع واحد ولكنه يتكون من خليط من الأشعة الكهرومغناطيسية المختلفة والتي يتميز كل شعاع منها بمدى من الأطوال الموجية ومدى من التردد أو التذبذب ومدي طاقي يختلف من شعاع لآخر كما سياتي شرحه بعد ذلك. والشعاع الكهرومغناطيسي يمكن أن يحدث له حيود refraction أو انعكاس reflection او تقوية reinforcement أو اضمحلال بالتداخل destructive interference، ويتقدم الشعاع في صورة حركة موجية اي حركة تدفع الشعاع لأعلى ثم تدفعه لأسفل مثل الموجة التي لها قمة crest وقاع trough ويوجد للموجة الكهرومغناطيسية مجال كهربائي وآخر مغناطيسي وكلا المجالين يتأرجح متعامدا على الآخر وعلى اتجاه تقدم الشعاع، وفي

الظروف العادية يحدث التداخل بين الشعاع والمادة وما يتبعه من تحولات طاقية نتيجة لفاعلية الخاصية الكهربية للشعاع فقط.

طول الموجة (λ) wave length:

وهي المسافة بين اي نقطتين متناظرتين على مسار الموجة أي بين قمتين متتابعتين two successive crest أو بين قاعين متتاليين للموجة two successive trough.

تتناسب كثافة الموجة amplitude مع عدد الفوتونات ذات الطول الموجي λ الواحد وتعرف بمربع السعة.

الذبذبة (ν) frequency

وهي عدد وحدات طول الموجة المارة بنقطة معينة في وحدة الزمن، ويعبر عن وحدة الذبذبة بالدورة / ثانية (cycles / second) ، أو هي عدد وحدات طول الموجة في مسافة قدرها يساوي سرعة الضوء اي حوالي 2.9976×10^{10} cm / sec.، وقد تعرف الذبذبة على أنها عدد وحدات طول الموجة في مسافة قدرها 1 cm وهذا العدد يسمى بالعدد الموجي ($\bar{\nu}$) wave number وهو مقلوب طول الموجة 1/λ .

$$\text{Wave number } (\bar{\nu}) = 1 / \lambda \text{ (cm)} = \text{cm}^{-1}$$

والعلاقة بين الذبذبة وطول الموجة وسرعة الضوء يمكن توضيحها بالمعادلة التالية:

$$\lambda = c / \nu n$$

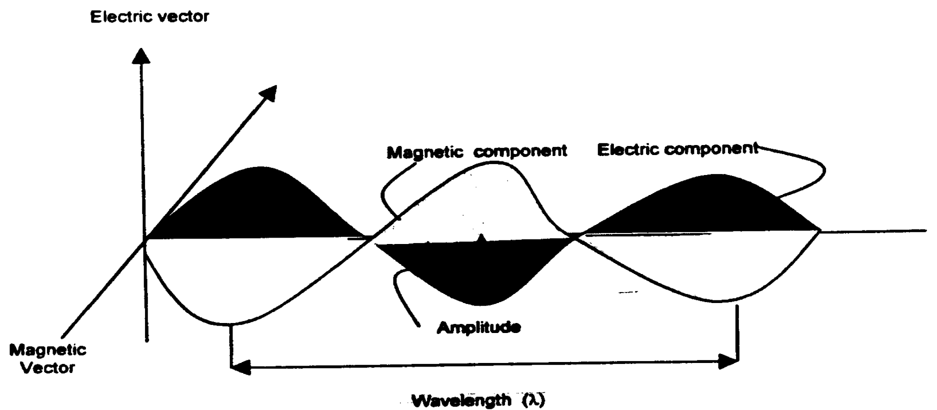
حيث:

c هي سرعة الضوء في الفراغ وتساوي 2.9976×10^{10} cm / sec.

n هي معامل الانكسار (النسبة بين سرعة الضوء في الفراغ الى سرعته في الوسط المعين).

والمجال الكهربي للشعاع الكهرومغناطيسي أكثر أهمية في الدراسات الطبيعية، ويستحدث المجال الكهربي عندما تؤثر قوة ما على حبيبة مشحونة مثال الأليكترون

بدفعها في اتجاه أو آخر، وعلى هذا فعندما يقع الأليكترون في مسار الشعاع فانه يتأثر بقوة تجذبه الى أعلى أثناء النصف الأول من الموجة وأخرى تدفعه الى اسفل خلال النصف الثاني منها وبمرور الموجات الضوئية يتكرر جذب ودفع الأليكترون على التوالي ويتردد هذا التأثير بعدد ذبذبات الشعاع C / λ كما هو موضح بشكل (١-١)



شكل (١-١) نمط الموجة الأليكترومغناطيسية

الخصائص الحبيبية Particle properties للشعاع الكهرومغناطيسي:

اقترح العالم Einstein أن الاشعاع الكهرومغناطيسي يتكون من حبيبات محددة تسمى فوتونات photons ذات طاقة محددة وتنطلق في الفضاء بسرعة الضوء.

لوصف تداخل الأشعة الكهرومغناطيسية مع المادة فانه يجب أن نتصور أن حزمة الضوء light beam كقطار من الفوتونات، وأن طاقة كل فوتون تتناسب مع ذبذبة الشعاع على حسب العلاقة التالية:

$$E \alpha \nu \qquad \therefore E = h \nu$$

$$\therefore E = h c / n \lambda \qquad \therefore E \alpha 1/\lambda$$

حيث: E هي الطاقة بالارج،

h ثابت بلانك وهو يساوي $h = 6.624 \times 10^{-27}$ erg / sec

ومن هذه العلاقة يتضح أن الفوتونات العالية الذبذبة (قصيرة الموجة) لها طاقة عالية بالمقارنة بالفوتونات الأقل ذبذبة (الأطول موجة) فان محتواها الطاقي أقل.

نطاق الطيف الكهرومغناطيسي The Spectrum range

يمتد نطاق الأشعة الكهرومغناطيسية المهم في الدراسات الكيميائية من أشعة جاما عالية الطاقة highly energetic rays الى موجات الراديو المنخفضة الطاقة جدا very low energetic radio waves وتتحدد مناطق الطيف المختلفة تبعا لنوع الجهاز المستخدم لتوليد أو كشف الأشعة مثل الأجهزة التالية :

UV Spectrophotometer, IR spectrophotometer, x-ray machine,.. AAS, NMR

وعادة ما تستخدم وحدات مختلفة لكل نطاق من مناطق الطيف ذات الأطوال المختلفة، على سبيل المثال: أشعة x-ray ذات أطوال موجات في نطاق 10^{-8} cm ولذا فتميز بالأنجستروم (A°) Angstrom، أما أطوال الموجات في نطاق الأشعة فوق البنفسجية والمرئية تميز اما بالأنجستروم أو المليميكرون mμ ، أما الأشعة تحت الحمراء تميز بالميكرون μ أو بالعدد الموجي cm^{-1}

وفيما يلي بعض التحويلات الحسابية:

1 nm (nano meter) = 10^{-9} m = 10^{-7} cm

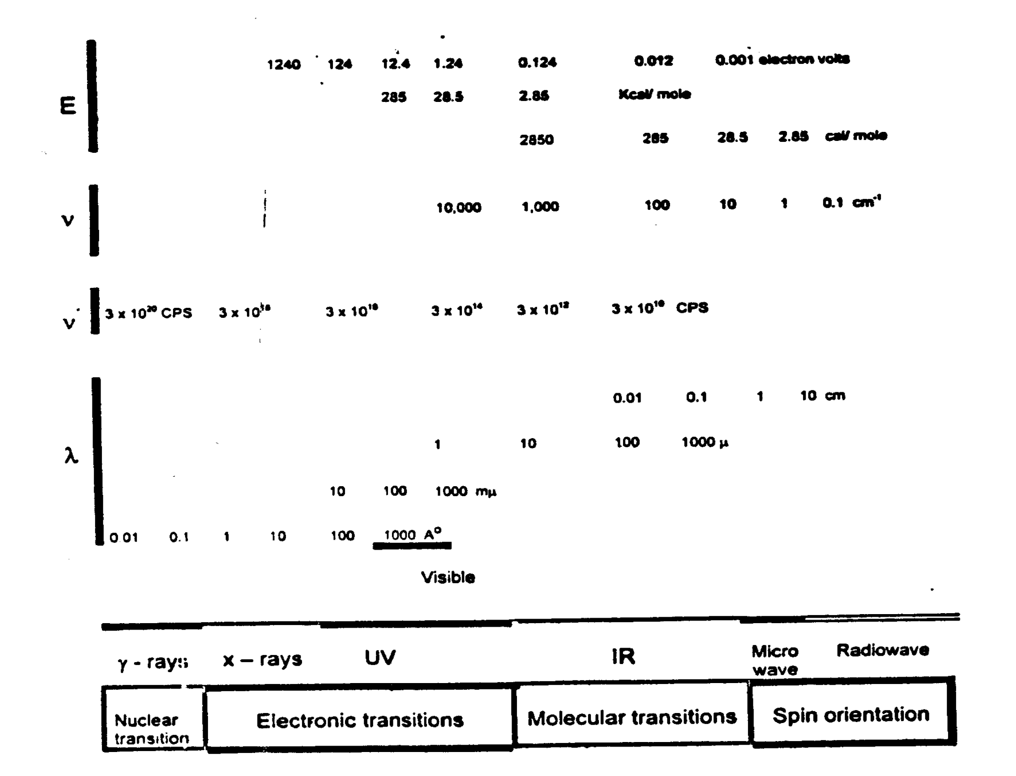
1 μm (micro meter) = 1 μ (micron) = 10^{-6} m = 10^{-4} cm

1 mμ = 10^{-9} m = 10^{-7} cm

1 mμ = 1 nm , 1 mμ = 10 Ao , 1A° = 10^{-8} cm

1 mμ = 10^{-7} cm , 1 μ = 10^{-4} cm

ويوضح شكل (١-٢) المناطق المختلفة للاشعاعات الكهرومغناطيسية من ناحية الطاقة والذبذبة وطول الموجة.



شكل (١-٢) الأطوال والذبذبات والطاقات المختلفة للطيف الكهرومغناطيسي

امتصاص الأشعة الكهرومغناطيسية Absorption of radiation

عند مرور أو تداخل الأشعة مع المادة فانه يتولد عدد من الظواهر المختلفة، وعندما تضاهي طاقة الفوتونات للشعاع الساقط أو المار الكم من الطاقة quantum المطلوب لانتقال الجزيء بين مستويات الطاقة المختلفة فان الشعاع يمتص محدثا احد الظواهر التالية أو اثنين منها أو جميعها معا وهي:

- انتقالات اليكترونية Electronic transition
- تغيرات تذبذبية Vibrational changes
- تغيرات دورانية Rotational changes

تعود الجزيئات والذرات المثارة excited الى حالة الاستقرار ground state بسرعة جدا اما عن طريق فقد طاقة في صورة حرارة أو عن طريق انبعاث اشعاع كهرومغناطيسي منها.

- يسبب امتصاص أشعة x-ray , UV, VL انتقالات اليكترونية في المادة مع ملاحظة وجود تغيرات تذبذبية ودورانية أيضا في الجزيئات المكونة للمادة.
- يؤدى امتصاص أشعة IR الى استحداث تغيرات تذبذبية في جزيئات المادة مع وجود تغيرات دورانية أيضا ولكن طاقة فوتونات هذه الأشعة التحت حمراء لاتكفي لاحداث تغيرات اليكترونية في الجزيء.
- امتصاص الأشعة تحت الحمراء البعيدة Far IR والأشعة القصيرة الموجة microwave radiation تؤدي فقط الى احداث تغيرات دورانية في الجزيء.
- امتصاص أشعة الراديو radio frequency يكون ضعيف جدا لمجرد أن يلاحظ ماعدا اذا كان تحت ظروف معينة خاصة مثل نواة معينة توضع في مجال مغناطيسي ويحدث ظاهرة الرنين النووي المغناطيسي nuclear magnetic resonance (NMR)

واخيرا فان جزءا من الشعاع الذي يمر خلال المادة يمكن أن يتشتت scattering أو ينعكس reflecting أو قد ينبعث emitted مرة أخرى من المادة بعد امتصاصه ويكون الشعاع المنعكس بنفس طول الموجة التي امتص عندها أو قد يختلف.

الامتصاص الذري للاشعاع Atomic absorption of EMR

عندما تمر الأشعة الكهرومغناطيسية على العناصر الموجودة في الحالة الذرية فان طاقتها الأليكترونية تزداد مما يؤدي الى حدوث انتقالات الأليكترونية بين مستويات الطاقة المختلفة وذلك للتخلص من أو بث هذه الطاقة الممتصة للوصول الى حالة الثبات، وفي حالة الذرة عديدة الأليكترونات فانه يحدث العديد من الامتصاصات .

وعموما لا يحدث الامتصاص الأليكتروني للشعاع الا عندما تضاهي طاقة الفوتون المهاجم فرق الطاقة بين مستويات الطاقة المعينة

$$\Delta E = h\nu$$

حيث: E تعبر عن فرق الطاقة. ،

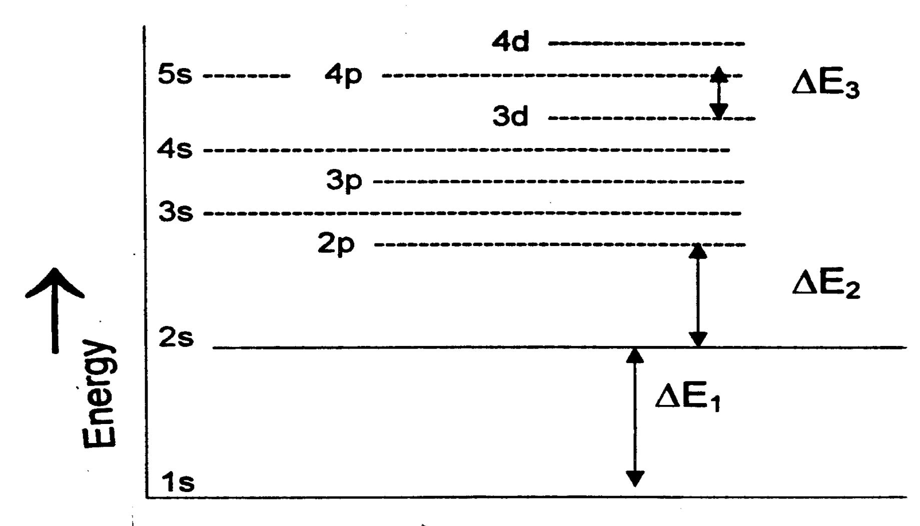
ν تعبر عن ذبذبة الفوتون المسبب للانتقال.

ويوضح شكل (١-٣) المستوى الطاقي للمسارات المختلفة داخل الذرة

*الطاقة المطلوبة لإحداث للأليكترونات من مدار 1S إلى مدار 2S تضاهى طاقة أشعة إكس، وعلى ذلك عندما يمتص الأليكترون أشعة إكس ينتقل من 1S ⟵ 2S .

* الطاقة المطلوبة لإحداث إنتقال للأليكترونات من مدار 2S إلى مدار 2P تضاهى طاقة الأشعة الفوق بنفسجية، فعندما يمتص الأليكترون الأشعة فوق البنفسجية ينتقل من 2S ⟵ 2P.

* الطاقة المطلوبة لإحداث إنتقال للأليكترونات من مدار 3d إلى مدار 4d تضاهى أشعة الضوء المرئى، فعندما يمتص الأليكترون أشعة Visible light ينتقل من 3d ⟵ 4P.



شكل (١-٢): المستويات الطاقية للمسارات المختلفة في الذرات العديدة الأليكترونات

الإمتصاص الجزيئي للأشعة Molecular absorption of EMR

يتميز الامتصاص الجزيئي للأشعة الكهرومغناطيسية بالتعقيد عن الامتصاص الذري في حالة الذرة المنفردة، وقد وجد أن فرق الطاقة بين المستويات الأليكترونية الجزيئية Molecular Electronic Levels (MEL) اكبر بكثير مما بين مستويات التذبذب Molecular Vibrational Levels (MVL) وكذلك فرق الطاقة بين مستويات التذبذب اكبر بكثير مما بين مستويات الدوران الجزيئي Molecular Rotational Levels (MRL)

$$\Delta E_{MEL} > \Delta E_{MVL} >> \Delta E_{MRL}$$

وهكذا فان كل انتقال اليكتروني في الجزيء يواكبه أو يحدث معه في نفس الوقت superimposed تغيرات تذبذبية ودورانية وبذلك يتضمن التغير الأليكتروني في الجزيء تغيرات تذبذبية وأخرى دورانية مما يزيد من نطاق الفوتونات الممكن امتصاصها.

في حالة المواد الصلبة والسائلة فقد تنعدم التغيرات الدورانية أو تنتشر حول مستويات التذبذب وبذلك فانه في حالة المواد الصلبة والسائلة تحدث تغيرات التذبذب فقط وعند طاقة معينة مؤدية الى narrow absorption bands أي طيف امتصاص محدد مستدق وهذا النوع من الامتصاصات أو طيف الامتصاصات يظهر في نطاق الأشعة تحت الحمراء القريبة والأساسية near and fundamental infra red regions وكما هو متوقع فان الـ IR للجزيئات الغازية تعطي قمم مستعرضة نوعا ما broader bands نتيجة للتغيرات الدورانية الكثيرة المحتمل اصطحابها في هذه الحالات بينما يعطي امتصاص نفس الجزيئات الغازية خطوط حادة sharp lines في نطاق الموجات القصيرة microwave نتيجة لانخفاض الطاقة الممتصة في هذا النطاق والتي تؤدي الى تغيرات دورانية فقط.

ويوضح شكل (١-٤) مستويات الطاقة في حالة الدوران والتذبذب والانتقال الأليكتروني داخل الجزيء

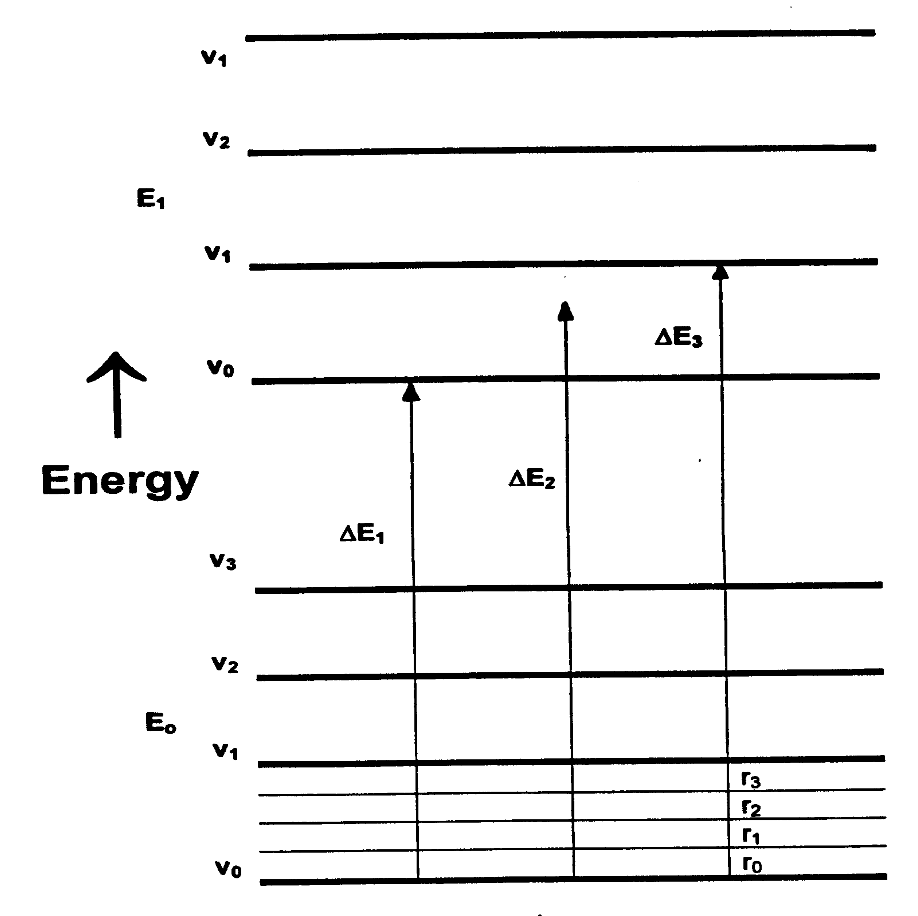
molecular electronic, vibrational and rotational energy levels

لتفسير الانتقالات الأليكترونية طبقاً للنظرية الجزيئية للروابط

Molecular orbital theory

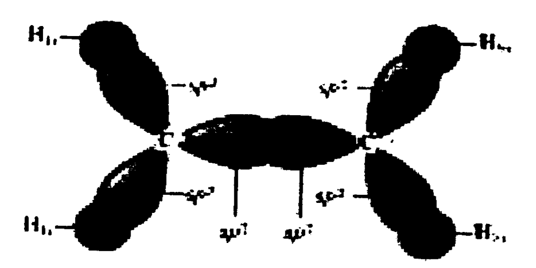
عندما تتحد ذرتان برابطة كيميائية تساهم كل من الذرتين بأليكترون حتى تتكون الرابطة A:B وهذه الرابطة الجديدة المتكونة تحتل مسار جديد يسمى المسار الجزيئي molecular orbital وفي هذه الحالة تنتمي أليكترونات الرابطة الى الجزيء كله

وليس لأي من الذرتين بالتحديد أي يندمج المساران من الذرتين المرتبطتين وينبثق مسارين جزيئين جديدين أحدهما منخفض الطاقة ويسمى المسار الرابط bonding orbital والآخر عالي الطاقة ويسمى المسار غير الرابط anti bonding orbital وكما هو معروف فان الروابط التعاونية تتكون بأزواج من الأليكترونات لتعطي روابط sigma (σ) or pi (π) وتتكون روابط سيجما بانطباق المسارات الذرية بالرأس head on overlap حيث تقترب الذرتين على نفس المحور بينما تتشكل روابط باي بالانطباق الجانبي parallel overlap لمسارات p المتوازية. ويوضح شكل (١-٥) روابط سيجما وباى.

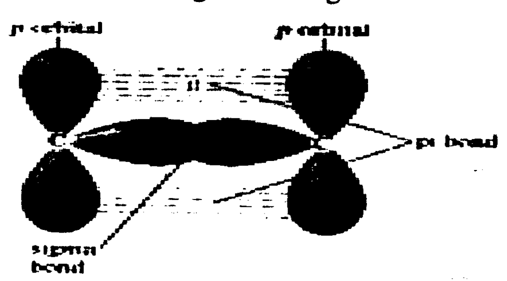


E_0 & E_1 are electronic energy levels
E_0 = ground state electronic level.
v_0 to v_3 are vibrational energy levels with
v_0 = lowest vibrational level in given electronic level.
r_0 to r_3 are rotational energy levels.

شكل (١-٤): مستويات الطاقة فى حالة الدوران والتذبذب والانتقال الأليكترونى داخل الجزئ



Sigma bonding



Pi bonding

شكل (١-٥): رابطة سيجما ورابطة باى

وهكذا فان النظرية الجزيئية للروابط تشير الى وجود مسار غير رابط يسمى antibonding orbital (σ^*) لكل مسار رابط (σ) bonding orbital وبالمثل هناك مسار غير رابط π^* لكل مسار رابط π وتعرف أليكترونات التكافؤ الغير مشاركة في الروابط الكيميائية في الجزيء بالأليكترونات غير الرابطة non-bonding or " n" electrons وتتواجد الأليكترونات غير الرابطة في الجزيئات العضوية أساسا في المسارات الذرية للنتروجين والأكسيجين والكبريت والهالوجينات وغيرها.

وتحدث الانتقالات الأليكترونية في الجزيئات العضوية بامتصاصها أشعة UV or VL بواسطة الأليكترونات في مسارات π أو في مسارات σ أو في مسارات n مثيرة اياها الى المسارات الجزيئية الغير رابطة العالية الطاقة (الحالة المثارة).

امتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية:

يؤدي امتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية الى حدوث انتقالات اليكترونية في الجزيئ بين ذرتين بينهما رابطة سجما أو رابطة باي أو بين ذرة تمتلك اليكترونات غير مشتركة في تكوين روابط (مثل ذرة الأكسيجين عليها زوجين من الأليكترونات غير مشتركة في تكوين روابط أو ذرة النتروجين عليها زوج واحد من هذه الأليكترونات) الى رابطة سجما أو رابطة باي.

وتترتب المسارات الجزيئية المختلفة بحسب مستويات الطاقة كما هو موضح فى شكل (١-٦):

$$\sigma \rightarrow \sigma^*, \quad n \rightarrow \sigma^*, \quad n \rightarrow \pi^*, \quad \text{and} \quad \pi \rightarrow \pi^*$$

والطاقة اللازمة للانتقال الأليكتروني من مسار لآخر تكون أعلى مايمكن في حالة $\sigma \rightarrow \sigma^*$ يليها الانتقال في حالة $n \rightarrow \sigma^*$ ثم يليها بعد ذلك الانتقال من $\pi \rightarrow \pi^*$ وفي النهاية يكون أقل كمية من الطاقة هي التي تستهلك في حالة الانتقال من $\pi \rightarrow \pi^*$

وعلى ذلك لا تمتص المركبات الهيدروكربونية المشبعة ـ الخالية من أليكترونات n والمشتملة فقط على روابط σ اشعاعات UV العادية.

σ^* (antibonding)
π^* (antibonding)

Energy ↑

n (non bonding)
π (bonding)
σ (bonding)

شكل (١-٦) تدرج مستويات الطاقة للمسارات الجزيئية المختلفة

أمثلة لبعض المركبات التي يحدث فيها الانتقالات الأليكترونية $\sigma^* \rightarrow n$.

مركب كلوريد الميثايل $CH_3 - Cl$

نجد أن هذا المركب لا يحتوي الا على روابط سجما فقط ، ويحتوي من ناحية أخرى على ذرة كلور والتي تحمل ٣ أزواج من الأليكترونات الغير مشتركة في تكوين الروابط والتي تسمي non bonding electrons وعندما يمتص أشعة فوق بنفسجية يعطي قمة امتصاص عظمى عند طول موجة تضاهي ١٧٣ ملليميكرون (λ max = 173 mμ)

كحول الميثايل CH_3 OH

نجد أن هذا المركب يحتوي على روابط سجما فقط ، ويحتوي من ناحية أخرى على ذرة اكسيجين والتي تحمل زوجين من الأليكترونات الغير مشتركة في تكوين الروابط، وعندما يمتص أشعة فوق بنفسجية يعطي قمة امتصاص عظمى عند طول موجة تضاهي ١٨٣ ملليميكرون (λ max = 183 mμ)

مركب ثلاثي ميثايل امين ($(CH_3)3$ NH_2)

هذا المركب يحتوي على روابط سجما فقط ويحتوي من ناحية أخرى على ذرة نتروجين والتي تحمل زوج واحد من الأليكترونات الغير مشتركة في تكوين الروابط، وعندما يمتص أشعة فوق بنفسجية يعطي قمة امتصاص عظمى عند طول موجة تضاهي ٢٢٧ ملليميكرون (λ max = 227 mμ)

وكما ذكرنا سابقا فان الانتقال الأليكتروني $\pi^* \rightarrow n$ يمثل أدنى الانتقالات الطاقية وبذا يمتص الانتقال الأليكتروني المصاحب لها في نطاق الموجات الطويلة.

الكيتونات المشبعة والألدهيدات

تبدي طيف امتصاص منخفض الكثافة $\pi^* \rightarrow n$ (λ max = 285 mμ) وذلك بسبب ذرة الأكسيجين الموجودة في الرابطة الكربونيلية، كما أنها تعطي امتصاص أيضا بسبب رابطة باي $\pi^* \rightarrow \pi$ عند طول موجة ١٨٨ ملليميكرون (λ max = 188 mμ) ويمكن شرح كل من الامتصاصين بالمعادلات التالية :

$$R_2\text{-}C{=}\ddot{O}: + h\nu \quad (\pi \rightarrow \pi^*) \quad \rightarrow \quad R_2\,C\dot{.}\dot{.}\ddot{O}:$$

$$R_2\text{-}C{=}\ddot{O}: + h\nu \quad (n \rightarrow \pi^*) \quad \rightarrow \quad R_2\,C{=}\dot{O}:$$

ويضم جدول (١-١) بعض أمثلة للانتقالات الأليكترونية، ويجب تذكر احتمال مواكبة بعض التغيرات التذبذبية والدورانية الجزيئية لهذه الانتقالات الأليكترونية في نفس الوقت.

جدول (١-١) الانتقالات الأليكترونية لبعض الجزيئات

Compound	Structure	Transition	λ_{max} (m/t)
Ethane	$H_3C - CH_3$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135
Ethylene	$H_2C = CH_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$	165
Methanol	$H_3C - \ddot{O} H$	$n \rightarrow \sigma^*$	183
Acetone	$H_3C - C(\ddot{O}) - CH_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	188
		$n \rightarrow \pi^*$	279
Toluene	$C_6H_5 - CH_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	208
1,2-Butadiene	$H_2C = C = CH - CH_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	220
Acetophenone	$C_6H_5 - C(\ddot{O}) - CH_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	240

طيف الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية والمنطقة المرئية للطيف:

ينتج عن امتصاص الجزيئات للأشعة الكهرومغناطيسية في منطقتي UV, VL انتقال واحد أو أكثر من الأليكترونات الموجودة في مدارات ذات طاقة منخفضة (مدارات الرابطة) الى مدارات ذات طاقة أعلى. ويتوقف الطول الموجي للأشعة التي يحدث لها امتصاص على طاقة الانتقال الأليكتروني في الجزيئات، وحيث أن هذه الطاقة تتوقف على التركيب الجزيئي، لذلك يستخدم هذا النوع من التحليل الطيفي في التعرف على المركبات، كما أن كثافة الامتصاص تتناسب طرديا مع عدد الجزيئات في مسار الأشعة، لذلك يستخدم هذا التحليل أيضا في مجالات عديدة من التحليل الكمي، ونظرا لأن هذا التحليل يشتمل على اثارة أليكترونية فيطلق عليه أحيانا التحليل الطيفي الأليكتروني electronic spectroscopy

وتشغل الأشعة فوق البنفسجية المنطقة من الطيف ذات الطول الموجي بين ١٠ - ٣٨٠ نانوميتر وهذه المنطقة تنقسم بدورها الى قسمين:

- **المنطقة المفرغة للأشعة فوق البنفسجية Vacuum uv**

وتقع في المدى ١٠ - ٢٠٠ نانوميتر، في حالة قياس الامتصاص على طول موجة أقل من ٢٠٠ نانوميتر أى في منطقة الـ vacuum uv فاننا نحتاج الى اجهزة خاصة هي أجهزة الأشعة فوق البنفسجية المفرغة والتي تعمل تحت تفريغ للمسار الضوئي للأشعة حيث تمتص مكونات الهواء الأشعة في هذه المنطقة(ولذلك يجب التخلص من هذا الهواء وجزيئاته التي تمتص الأشعة في هذا النطاق)؛

- **المنطقة الفوق بنفسجية القريبة Near or quartz uv**

وتقع بين ٢٠٠ - ٣٨٠ نانوميتر، وهذه هي المنطقة التي يحدث فيها الامتصاص للمركبات العضوية والحيوية ولذلك فان أجهزة الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية تعمل فقط في المدى بين ٢٠٠ - ٣٨٠ نانوميتر.

وتشغل الأشعة المرئية المنطقة من الطيف ذات الطول الموجي بين ٣٨٠ — ٧٨٠ نانوميتر وفي هذه المنطقة يحدث امتصاص للأنظمة غير العضوية .

وتعتبر هذه المنطقة ليست هامة في مجال التعرف على التركيب الكيماوي لأن معظم المركبات العضوية غير ملونة ولذلك فان الكشف عنها باستخدام الأشعة المرئية ليس له دور في التحليل الوصفي لها أو الكشف عنها، ولكن اذا أمكن تحويلها الى مركبات ملونة باجراء تفاعل بينها وبين مادة مسئولة عن اعطاء لون للمركب فان ذلك يمكن أن يكون مفيدا في التقديرات الكمية.

وتنقسم مناطق الطيف كما هو موضح فى جدول (١-٢):

جدول (١-٢): مناطق الطيف المرئى المختلفة

اللون الممتص	طول الموجة	اللون الملاحظ
Violet	٤٠٠ – ٤٣٥	Yellow – green
Blue	٤٣٥ – ٤٩٥	Yellow
Green	٤٩٥ – ٥٦٠	Violet – red (purple)
Yellow	٥٦٠ – ٥٩٥	Blue
Orange	٥٩٥ – ٦٥٠	Greenish – blue
Red	٦٥٠ – ٨٠٠	Bluish - green

وفي التقديرات الكمية نجد أن المقدار الممتص من الضوء الساقط على العينة يتناسب مع عدد الجزيئات الموجودة بالعينة (التركيز) في مسار الضوء.

$$O.D = \log I_0 / I = \varepsilon LC$$

حيث:

O.D هي الكثافة الضوئية ، L سمك خلية القياس أو طول مسار الضوء

I_0 شدة الضوء الساقط ، I شدة الضوء النافذ

C التركيز moles / liter

ε معامل التلاشي الجزيئي أو الامتصاصية الجزيئية Liter / mole. cm

الفصل الثانى

جهاز التحليل الطيفي باستخدام الأشعة المرئية وفوق البنفسجية

UV-VL Spectrophotometer

مقدمة:

تسمي هذه الأجهزة باسم المطياف spectrometers or spectrophotometers وتعتمد هذه الأجهزة على قياس التغير في طاقة الأشعة الكهرومغناطيسية نتيجة امتصاص المادة المراد تحليلها لهذه الأشعة عند طول موجة يقع في المدى الخاص بالأشعة فوق البنفسجية والمرئية.

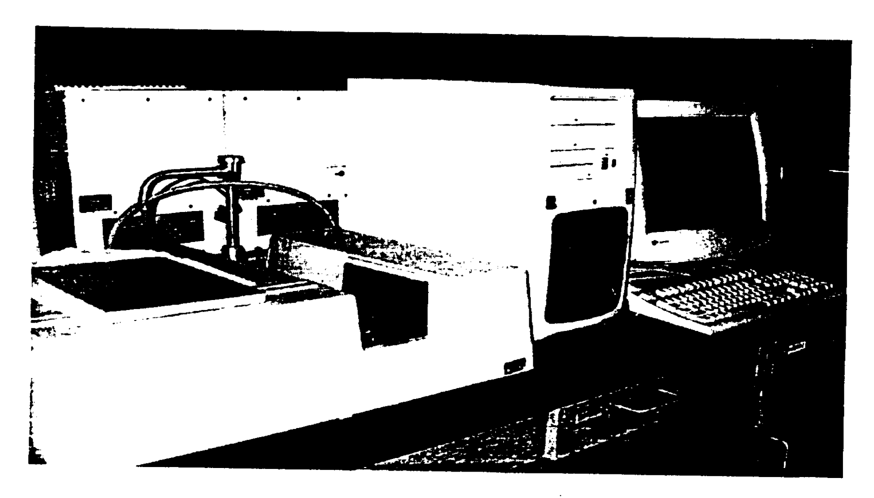
ويوجد العديد من طرز أجهزة UV-VL Spectrophotometer تختلف عن بعضها في التصميم ولكنها تشترك في الوحدات الأساسية التالية:

مصدر الضوء Energy source ، موحد الموجات Monochromator، خلية القياس Sample cell ، كشاف الاشعاع Detector ، مسجل البيانات Recorder كما هو موضح بشكل (٢-١).

مصدر طاقة الاشعاع Source of Radiation Energy

يتكون مصدر الاشعاع من مواد قابلة للاثارة بواسطة شحنة كهربية أو مسخن كهربائي حيث تنتقل اليكتروناتها إلى مستويات طاقة أعلى وقد يكون للمادة عديد من مستويات الطاقة المتقاربة مما يتسبب في تقارب أطوال الموجات المشعة معطية طيف مستمر في نطاق عريض.

ويتميز مصدر الاشعاع المثالي لقياسات الامتصاص بقدرته على بث طيف مستمر قوي ومتجانس في مدى المجال المستخدم (يحتوي على جميع الأطوال الموجية في المدى المستخدم في التقدير).

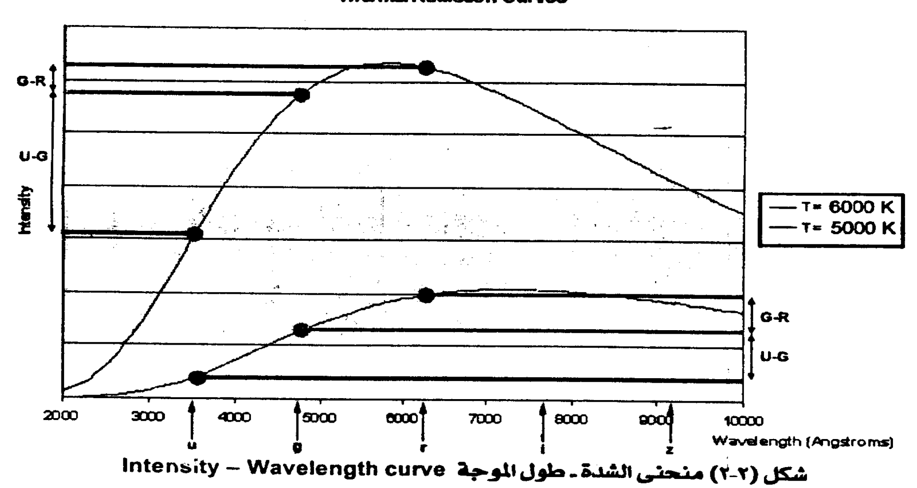


شكل (٢-١) جهاز التحليل الطيفى باستخدام الأشعة المرئية وفوق البنفسجية
UV/VIS Spectrophotometer (double beam)

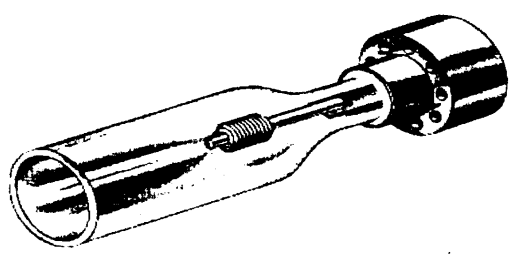
أي تغير يحدث في قوة الكهرباء التي تعطي الطاقة لمصدر الاشعاع يصاحبها انسحاب لمنحنى " الشدة intensity — طول الموجة wavelength " أنظر شكل (٢-٢) ومن المعروف أن ثبات شدة التيار مهمة جدا ومطلوبة خاصة عند استخدام الأجهزة وحيدة الشعاع single beam instruments وذلك لتجنب الخطأ في القياسات حيث أن قوة الشعاع الساقط تختلف بين وقت ضبط الجهاز ووقت قياس شدة الشعاع النافذ من العينة مما يسبب خطأ في النفاذية التي تم قياسها ، أما في حالة الأجهزة ثنائية الاشعاع Double beam instruments فهي مصممة لعمل مقارنة بين الضوء الساقط على العينة والضوء النافذ منها ولذلك في هذا النوع من الأجهزة أمكن التغلب على مشكلة عدم الثبات العالي لمصدر الاشعاع حيث أن المقارنة بين الشعاع الساقط والنافذ تحدث بصورة تلقائية.

مصدر الأشعة الفوق بنفسجية Source of UV radiation

تستخدم لمبة الهيدروجين Hydrogen lamb أو لمبة الديوتيريوم Deuterium discharge كمصدر لأشعة UV وتتكون من قطبين في أنبوبة زجاجية ذات نافذة كوارتز ومملوءة بغاز الهيدروجين أو الديوتيريوم على ضغط منخفض ويتطلب شرارة كهربية وهي تعمل تحت ضغط منخفض وتيار كهربي متردد DC لانتاج الأشعة فوق البنفسجية وعند غلق الدائرة فتثار الأليكترونات في الجزيء الغازي الى مستويات الطاقة الأعلى وعند عودة الأليكترونات المثارة الى المستويات الأقل تتسع الاشعاعات في نطاق مستمر 180 - 350 nm. كما هو موضح فى شكل (٢-٢).



شكل (٢-٢) منحنى الشدة - طول الموجة Intensity – Wavelength curve



شكل (٢-٣) لمبة الأشعة فوق البنفسجية UV - lamp

مصدر الأشعة في نطاق الضوء المرئي Source of visible radiation

تستخدم لمبة التنجستن Tungsten lamp كمصدر للأشعة المرئية light visible وتتكون من فتيل من التنجستن في أنبوبة زجاجية وهي مصدر رخيص للطيف المرئي ويسخن الفتيل بواسطة تيار مستمر منتظم، ويشع فتيل التنجستن طيف مستمر بين 350 - 2500 nm وتنتج هذه الأشعة المستمرة نتيجة لتذبذب الذرات في الفتيل عند ارتفاع درجة حرارته الى درجة التوهج.

ويلاحظ أن جزءا كبيرا من هذه الأشعة ينتج في المنطقة تحت الحمراء أو القريبة near IR ولذلك يوضع مرشح ضوئي ماص للحرارة Heat absorbing filter بين المصدر الضوئي والعينة لامتصاص الأشعة تحت الحمراء.

موحدات أطوال الموجات Monochromators

يفضل استخدام نطاقات ضيقة من الطيف وذلك باستخدام وسيلة لتميز النطاق المستمر للطيف المختلط الى حزم مستدقة narrow bands ومن تلك الوسائل المستخدمة هي المرشحات filters وموحدات الموجات monochromators مثل المنشور prism والمحزوزات gratings

ومن المميزات الناتجة عن استخدام نطاق ضيق من الطيف ما يلي:

١. تعطي قدرة تمييز resolution عالية للأشعة الممتصة والمتقاربة في طول الموجة.

٢. تعطي قمم sharp سهلة التحديد مما يزيد من حساسية الجهاز.

تختلف وحدة فصل الأطوال الموجية باختلاف تصميم الجهاز:

في اجهزة الـ Photometers والتي تستخدم أساسا في أغراض التحليل الكمي عند طول موجة معين لتقدير تركيز المركبات نستخدم المرشحات الضوئية Filters حيث يسمح بمرور حزمة تحتوي على مدى صغير من الأطوال الموجية التي يجرى عليها التقدير بينما لا يسمح بمرور بقية الأشعة ، ويقتصر استعمال اجهزة الفوتوميتر في معظم أجهزة الامتصاص على المنطقة المرئية من الطيف.

امـا في اجهـزة Spectrophotometers يسـتخدم المنشـور prism أو محـزوز الحيود Diffraction grating في عملية فصل الأطوال الموجيـة ، كما أن هـذه الأجهـزة لا تقتصر على استخدام المنطقة المرئية من الضـوء بـل يستخدم مصـدرين احـدهما للأشـعة المرئية والآخر للأشعة الفوق البنفسجية.

ويمتاز كل من المنشور ومحزوز الحيود عن المرشحات الضوئية فيما يلي:

١- درجة الفصل تكون على درجة أعلى وتكون الحزم المفصولة في مـدى ضـيق جـدا تتراوح بين 0.1 - 35 mμ بينما تكون في حالة المرشحات 0.2 - 50 mμ

٢- يمكن توجيه الحزم المفصولة الواحدة بعد الأخرى على العينة وبصورة مستمرة عـن طريـق تغـيير الوضـع الهندسـي للمنشـور وبـذلك يمكـن عمـل scanning للامتصاص على أطوال موجات مختلفة.

ولذلك بدأت تحل موحدات الموجات محل المرشحات ، وبـذلك نجـد في موحـد الموجـات يميز الاشعاع المختلط polychromatic radiation الى أطوال موجات منفـردة في حـزم مستدقة.

وتتكون موحدات الموجات monochromators من ما يلي:

١. فتحة لدخول الضوء الساقط المختلط entrance slit
٢. وسيلة لتجميع الضوء كعدسة أو مرآة collecting device, lens or mirror
٣. وسيلة تفريد للضوء مثل منشـور أو محـزز dispersion device , prism or grating حيث تفرق أو تحلل الضوء الى أطوال موجات منفردة.
٤. عدسة أو مرآة للضبط focusing lens or mirror
٥. فتحة لخروج الضوء exit slit حيث يخرج الضوء بأطوال موجات منفردة وحزم ضيقة وتجمع كل هذه المكونات في صندوق عازل للضوء.

ويجب ان تكون جميع مكونات موحدات الموجات شفافة UV or VL transparent اي لا تمتص هي نفسها أي جزء من الضوء في مدى أطوال الموجات تحت الدراسة.

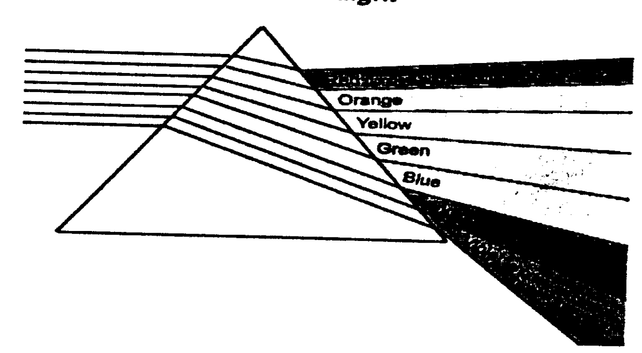
ويتوقف عرض الحزمة الضوئية المنبعثة مـن موحـدات الموجـات على عـدد مـن العوامل منها:

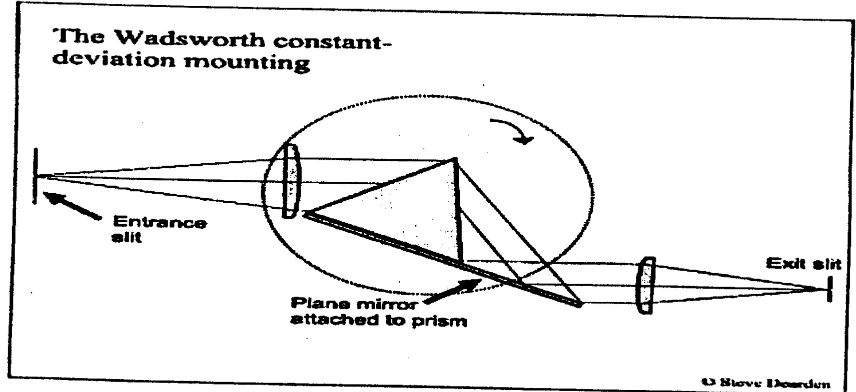
١. وسيلة التفريد أة التفريق المستخدمة prism or gratting

٢. فتحة الدخول والخروج حيث تسمح الفتحة الضيقة بتحديد الحزمة الضوئية ولكنها تقلل من شدتها.

المنشورات Prisms

تتفرق الأشعة البيضاء المنبعثة من المنشور كحزم دقيقة مختلفة زاوية الانبثاق، ولنفاذ كل حزمة من خلال ثقب الخروج يدار المنشور حتى يواجه طول الموجة المعينة نتيجة الخروج، كما هو موضح بشكل (٢-٤)





شكل (٢-٤) المنشورات Prisms

وتتفرق الأشعة في المنشور نتيجة لاختلاف معامل انكسار هذه الأشعة في مادة المنشور حسب طول الموجة النافذة.

ويزداد الانتشار Dispersion بازدياد امتصاص مادة المنشور للشعاع وعند استخدام الكوارتز يزداد الانتشار ويزداد تمييز الاشعاع حتى 200 mμ وذلك في نطاق الأشعة الفوق بنفسجية القصيرة الموجة.

يتركب المنشور المعتاد 60° Cornu quartz prism من نصف يميني الاستقطاب optical activity (+) ونصف آخر يساري الاستقطاب أو الدوران (—) وبلصق النصفين معا يمنع الاشعاعات الشاردة من المرور في المنشور.

وفي حالة المنشور 30° Littrow prism تمر الأشعة في كلا الاتجاهين بعكسها على سطح الومنيوم أو فضة ، كما يستخدم في معظم الأجهزة التجارية.

تستخدم منشورات السيليكا (SiO_2) بأنواعها في نطاق الأشعة فوق البنفسجية حيث تتميز منشورات الكوارتز (وهو نوع متبلر من السيليكا)، والسيليكا المنصهرة fused silica بشفافيتها للاشعاعات حتى 200 mμ فيما عدا بعض الضعف في نطاق 245 mμ ، وتنفذ السيليكا عالية النفاذية الضوء حتى 185 mμ بينما تنفذ في المدى الأبعد أشعة (3.3μ) near IR ولكنها تظهر مدى انتشار ضئيل جدا في الضوء المرئي.

تستخدم منشورات الفلوريت $Ca\ F_2$ في نطاق vacuum UV حيث أنها شفافة للاشعاع حتى 125 mμ

ينفذ الزجاج الفلنت العادي Flint glass (المحتوي على الرصاص) الأشعة المرئية والمنطقة القريبة في الأشعة تحت الحمراء بامتياز V.L. & near I.R

المحززات Gratings

عادة ما تستخدم محززات الحيود العاكسة reflection diffraction gratings في نطاق أجهزة UV and VL وهي تتكون من سطح عاكس قوي مغطى بالألومنيوم aluminized، ويقسم المحزز بعدد كبير من الخطوط المتوازية المتساوية البعد

٦٠٠-٢٠٠٠ خط /مللي متر تبعا لنطاق الطيف المستهدف. وعند سقوط الاشعاع على سطح المحزز فان الأشعة المتوازية والتي تكون في نفس الاتجاه وفي نفس الوقت تقوي بعضها البعض حيث تتلاحم جميعها معا لأنها ذات طول موجي واحد وبذلك تكون متوافقـــــــة inphase، وقــد يحــدث تــراكم overlapping كمــا في النطــاق (mμ) millimicron 300 or 200 مع الاشعاعات التي في نطاق 600 millimicron حيث يمكن تفاديه بالترشيح أو بالتحزيز الملائم أي بملاءمة الـ blaze angle يمكن تركيز ما يقرب من ٧٥٪ من الاشعاع الساقط وبدوران المحزز توجه الأشعة على فتحة الخروج، كما هو موضح بشكل (٢-٥).

وتتميز المحززات العاكسة بعلاقتها الخطية بزاوية الانتشار والثبات بين المساران المعكوسان في المدى 200 - 800 mμ في نطاق الأشعة الفوق بنفسجية والمرئية وعلى ذلك فالمحزوزات أفضل من المنشورات حيث يمكنها اعطاء حزم متساوية عند استخدام فتحة ثابتة في نطاق الطيف المستهدف بخلاف المنشور حيث يختلف عرض الحزمة الضوئية باختلاف النطاق المستخدم من الاشعاع.

معايرة المطياف Wavelength calibration

يمكن التحقق من كفاءة ودقة المطياف المستخدم وذلك عن طريق عمل تحليل لمادة معروفة الامتصاص ومقارنة ذلك بالقيمة المتحصل عليها.

١. يولد قوس الزئبق خط حاد عند طول موجة 546.1 mμ

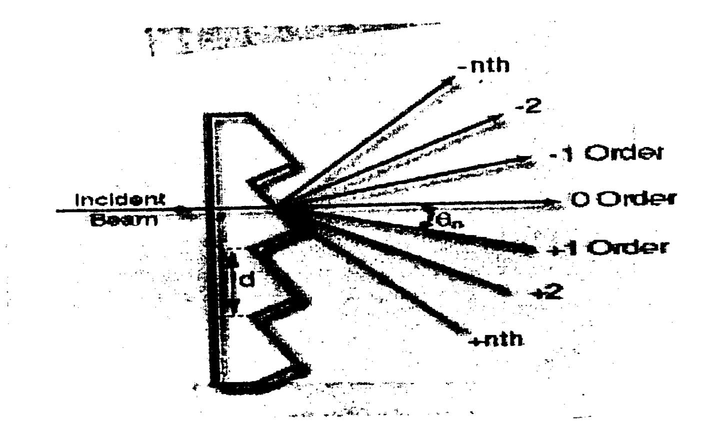
٢. تولد لمبة الهيدروجين خط كثيف عند طول موجة 656.3 mμ

٣. مرشح didymium الزجاجي له تسعة امتصاصات حادة في المدى 441 - 1067 mμ

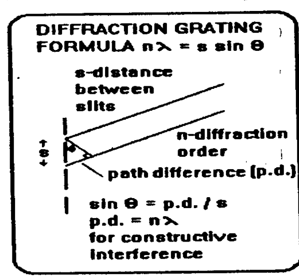
٤. Polystyrene film له العديد من قمم الامتصاص المعروفة.

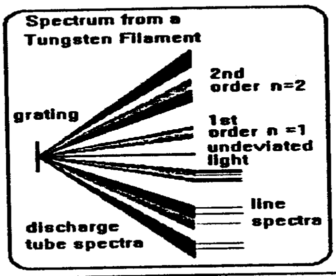
المرايا والعدسات Lenses and mirrors

يجمع الشعاع ويمركز collimated & focused بواسطة العدسات والمرايا التى تصنع من مواد شفافة للاشعاع المستخدم.

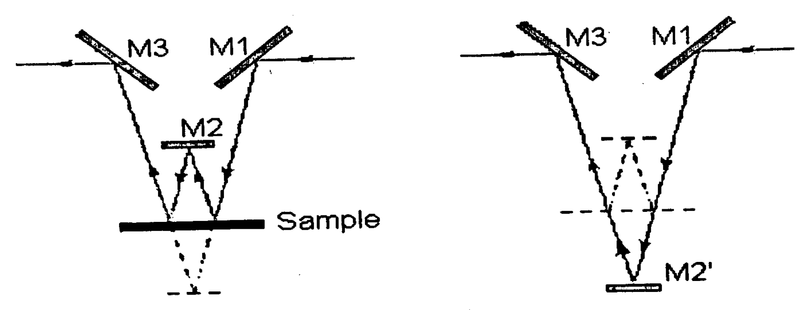


Theoretical derivation of the grating formula and the significance of spectra order





Robert Bunsen (1811-1899) and Gustav Kirchoff (1824-1887) observed in about 1859 that each element emits a light of characteristic wavelength, the beginnings of spectrum analysis and the key to unlocking the secrets of the atom



شكل (٢-٥) المحزوزات Grating

خلايا العينات Sample containers

قد تكون العينات المختبرة بالأشعة فوق البنفسجية أو المرئية عينات سائلة أو غازية، وتوضع العينات في خلايا مصنوعة من الكوارتز أو fused silica بينما يمكن استخدام الزجاج العادي في نطاق الأشعة المرئية.

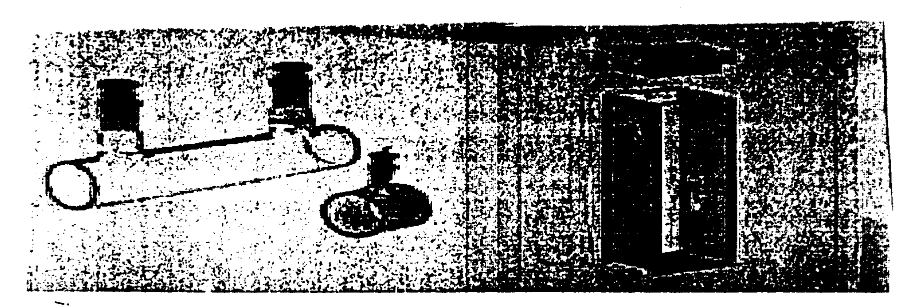
وتكون سمك خلية القياس في خلايا الغازات من 0.1 - 10 mm بينما تكون في حالة المحاليل بين 1-10 cm وقد تستخدم خلايا دقيقة microcells بمكثف شعاع beam condenser لفحص العينات الصغيرة الحجم. ويوضح شكل (٢-٦) صور مختلفة للخلايا المستخدمة فى نطاق التحليل الطيفى بالأشعة فوق البنفسجية.

ويجب الحفاظ على نوافذ الخلايا نظيفة تماما من بصمات الأصابع والخدوش وآثار العينات السابقة وذلك لتفادي أي خطأ في القياس ويمكن تنظيف خلايا الكوارتز أو الزجاج بشطفها بالماء أو الصابون مع الماء أو بحمض النتريك المركز.

ومكان وضع العينة يكون بعد موحد الموجات monochromator في جهاز الـ UV-VL spectrophotometer وذلك لتفادي أي تدهور في الاستضواء بواسطة أي من الموجات عالية الطاقة في الضوء المختلط حتى تكون طاقة الأشعة الساقطة على العينة منخفضة لاحتوائها على عدد قليل من الأطوال الموجية بعد تفريدها. بينما في حالة IR Spectrometer توضع قبل موحد الموجات حتى لا تعوق ضبط الأشعة على الكشاف وهنا لأن طاقة أشعة IR أصلا منخفضة بالمقارنة بطاقة الأشعة الفوق بنفسجية. وبصرف النظر عن مكان وضع العينة لابد من توجه الشعاع الساقط عموديا على نافذة الخلية لتجنب الفقد بالتشتت أو الانعكاس.

اختيار المذيب المناسب Choice of solvent

من الشائع استخدام الكحول 95% ethanol ولايستخدم الكحول الأقل في النقاوة لأنه قد يحتوي على بقايا من البنزين النشط في نطاق UV وعموما يتميز كحول الايثانول بأنه رخيص الثمن ونفاذيته حتى ٢١٠ ملليميكرون.





شكل (٢-٦) خلايا العينات المستخدمة فى التحليل الطيفى بالأشعة فوق البنفسجية

ويمكن استخدام الهكسان الحلقي أو أي مذيب هيدروكربوني أقل قطبية من الكحولات عند دراسة التراكيب الدقيقة للمواد الكيماوية حيث أن تداخلها مع الجزيئات المقدرة يكون طفيف جداً.

أيضا بالنسبة للمذيب المستخدم قد يكون له امتصاص عند طول الموجة المستخدمة لقياس العينة المستهدفة ولذلك يفضل استخدام transparent solvent أي مذيبات شفافة بمعنى أنها لا تمتص الضوء عند طول الموجة المستخدم لقياس مركب معين وكذلك خلية القياس يجب أن تكون شفافة. ويوضح جدول (٢-١) بعض الأمثلة للمذيبات التى يمكن إستخدامها فى إذابة العينات المطلوب تحليلها باستخدام الأشعة فوق البنفسجية.

ومن المذيبات التي يفضل استخدامها عند قياس امتصاص العينات في مجال الأشعة الفوق بنفسجية مذيب الايثانول والهكسان والماء ، dioxane، وعموما في أجهزة

الـ Double beam spectrophotometer يوجد خلية مرجعية reference cell وتحتوي المذيب فقط ويوجد في نفس الجهاز خلية القياس وهي تحتوي المركب المطلوب قياسه + المذيب وهنا يحدث مقارنة بين الخليتين بحيث يطرح الفرق في الامتصاص بين الخليتين حتى يكون الامتصاص راجع للمركب المطلوب فقط.

جدول (٢-١) بعض المذيبات المستخدمة فى التحليل الطيف باستخدام الأشعة فوق البنفسجية

Solvents	Minimum wavelength for 1cm cell, nm
Acetonitrile	190
Water	191
Hexane	201
Cyclohexane	195
Methanol	203
Ethanol	204
Ether	215
Methylene chloride	220
Chloroform	237
Carbon tetrachloride	257

وكما سبق وبينا أن المقدار الممتص من الضوء الساقط على العينة يتناسب مع عدد الجزيئات الموجودة بالعينة (التركيز) في مسار الضوء.

$A = O.D. = \log I_0 / I = \epsilon LC$

حيث:

A الامتصاصية ، O.D. هي الكثافة الضوئية ، L سمك خلية القياس أو طول مسار الضوء

I_0 شدة الضوء الساقط ، I شدة الضوء النافذ ، C التركيز بوحدات moles/liter

ϵ معامل الأمتصاص المولي أو الجزيئي $Liter.\ Mole^{-1}.\ cm^{-1}$

وتكون قيمة ϵ فى حدود ١٠ — ١٠٠٠٠ لتر مول$^{-1}$سم$^{-1}$

ويقال ان الامتصاص قوي اذا كانت قيمة معامل الامتصاص المولي في حدود ١٠٠٠٠

ويقال ان الامتصاص متوسطا اذا كانت قيمة معامل الامتصاص المولي في حدود ٥٠٠٠

ويقال ان الامتصاص ضعيفا اذا كانت قيمة معامل الامتصاص المولي في حدود ١٠٠٠

واستخدام الامتصاص المولي للتعبير عن كثافة الامتصاص له أهمية خاصة حيث يعبر عن امتصاص عدد معين من الجزيئات عند طول موجي معين وبذلك يمكن مقارنة الامتصاص للمركبات المختلفة.

ويتميز جهاز UV-VL spectrometer بامكانيـة اكتشافه لتركيـزات ضئيلة من العينات المراد تقديرها (حوالي 1 mg من عينـة وزنها الجزيئـي يـتراوح بـين ١٠٠ - ٢٠٠) اي ان الـ detection limit له في حدود المليجرامات.

توزن العينة المراد تقديرها في حدود x mg ثم يتم اذابتها في المـذيب العضوي المناسب ثم ينقل بعضها الى خليـة العينـة (المصنوعة مـن السيليكا) ثـم توضـع الخليـة في مسار الشعاع (بسمك 1cm) ثـم توضـع خليـة أخرى مماثلـة بهـا المـذيب النقـي في مسار المرجـع. ثـم يعـبر عـن النتـائج بوحـدات (mμ) λ_{max} أو يعـبر عنهـا بوحـدات ϵ_{max} (Liter. Mole^{-1}. cm^{-1})

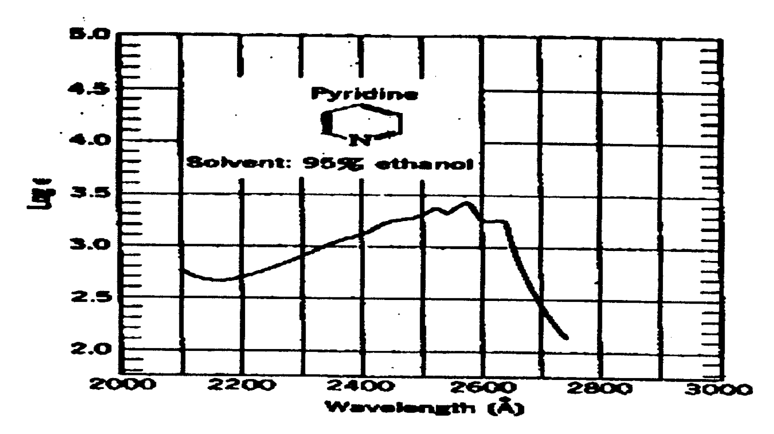
ويوضح شكل (٢-٧) شكل منحنى الأشعة فوق البنفسجية UV.Spectrum لمركب Pyridine.

وحدة قياس طاقة الأشعة Detectors

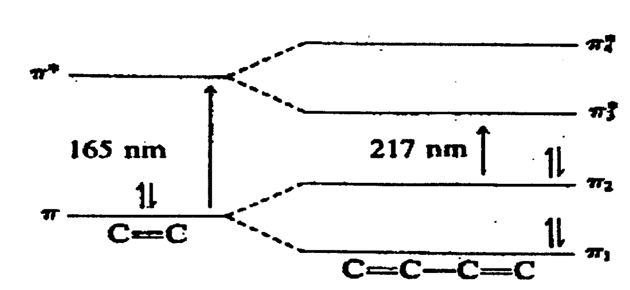
يمتص الكشاف طاقة الفوتونـات السـاقطة عليـه ويحولها الى قياسـات كميـة ، ومعظـم الكشافات الحديثة تولد اشارات اليكترونية يمكن تسجيلها بمقياس أو مسجل معين، ويتميز الكشاف الجيد بالآتي:

١- ان يكون له حساسية عالية مع انخفاض الشوشرة background noise حتى يمكنه كشف الأشعة الضعيفة أيضا.
٢- أن يكون له مدى قصير للاستجابة.
٣- الثبـات علـى مـدى واسـع لضـمان العلاقـة الكميـة بـين قـوة الاشـارة وقـوة الاشـعاع الساقط عليه.
٤- يعطي اشارة اليكترونية يسهل تكبيرها وقراءتها.

ويوضح شكل (٢-٨) كيفية حدوث الانتقالات الأليكترونية بعد امتصاص الجزئ للأشعة فوق البنفسجية



شكل (٢-٧) شكل منحنى UV Spectrum



شكل (٢-٨) كيفية حدوث الانتقالات الأليكترونية $\pi \rightarrow \pi^*$ بعد امتصاص الأشعة فوق البنفسجية

انواع الكشافات المستخدمة في أجهزة UV-VL –Spectrophotometer

١- الخلايا الضوئية ذات الطبقة الحاجزة Barrier layer photo cell

وتستخدم هذه الخلايا في قياس الأشعة في المنطقة المرئية حيث أن حساسية هذا النوع من الخلايا تكون في المنطقة 350 – 750 nm، كما أن درجة استجابة هذا النوع من الخلايا ليست كبيرة كما يصعب تكبير التيار الناتج عنها، ولذلك يستخدم هذا النوع من الكشافات في أجهزة photometer التي تستخدم فلتر filter حيث يتم الامتصاص في المنطقة المرئية، وطاقة الأشعة التي تصل الى الخلية في وجود المرشحات تكون كبيرة حيث تحتوي الأشعة على عدد كبير نسبيا من الأطوال الموجية وتقاس بواسطة الجلفانوميتر حيث أن إستجابته مناسبة للأشعة ذات الطاقة العالية. ويوضح شكل (٢-٩) تركيب الخلايا الضوئية ذات الطبقة الحاجزة.

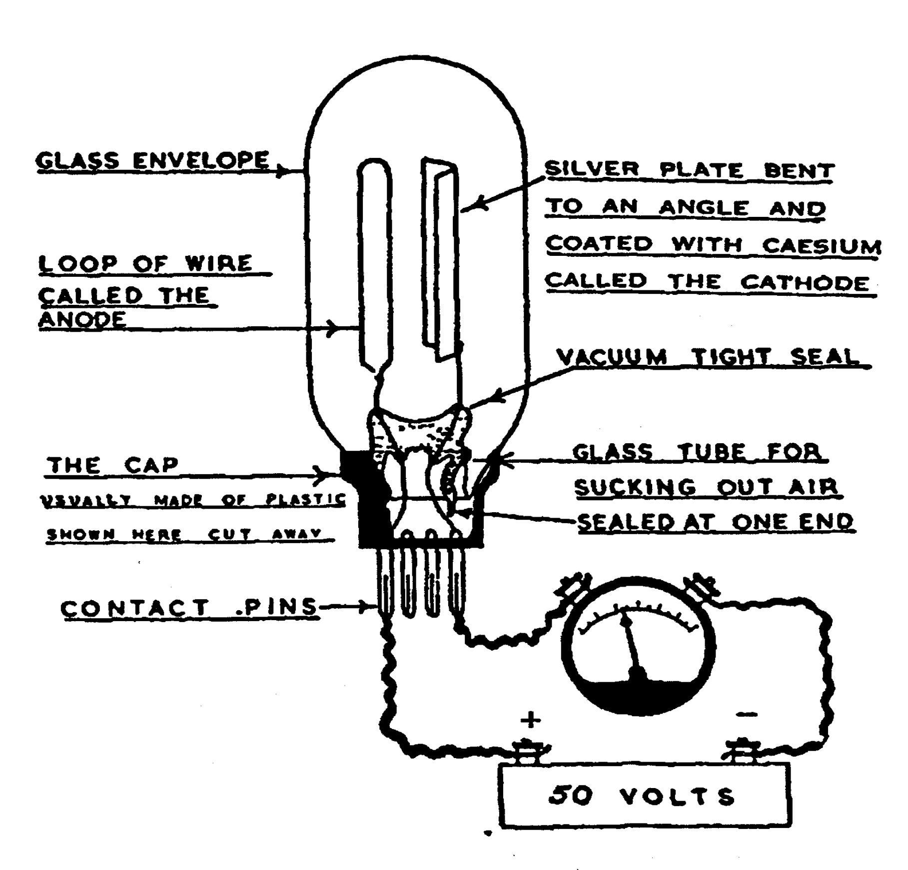
٢- الكشافات الكهروضوئية Photoelectric detectors

تستخدم هذه الكشافات مع أجهزة Spectrophotometer التي تستخدم المنشور أو المحزوز في فصل الأشعة حيث تكون طاقة الأشعة منخفضة جدا نظرا لاحتوائها على عدد قليل من الأطوال الموجية ، ولذلك تستخدم الخلية الضوئية phototube أو الخلية الضوئية المركبة photomutiplier tube (PMT) حيث تكون استجابتها مناسبة للأشعة ذات الطاقة المنخفضة ، كما أنه يمكن تكبير التيار الكهربي الناتج عنها ويتم تسجيل طيف الامتصاص باستخدام وحدة تسجيل recording unit. ويوضح شكل (٢-١٠) تركيب الخلايا الضوئية وكذلك الخلايا الضوئية المركبة

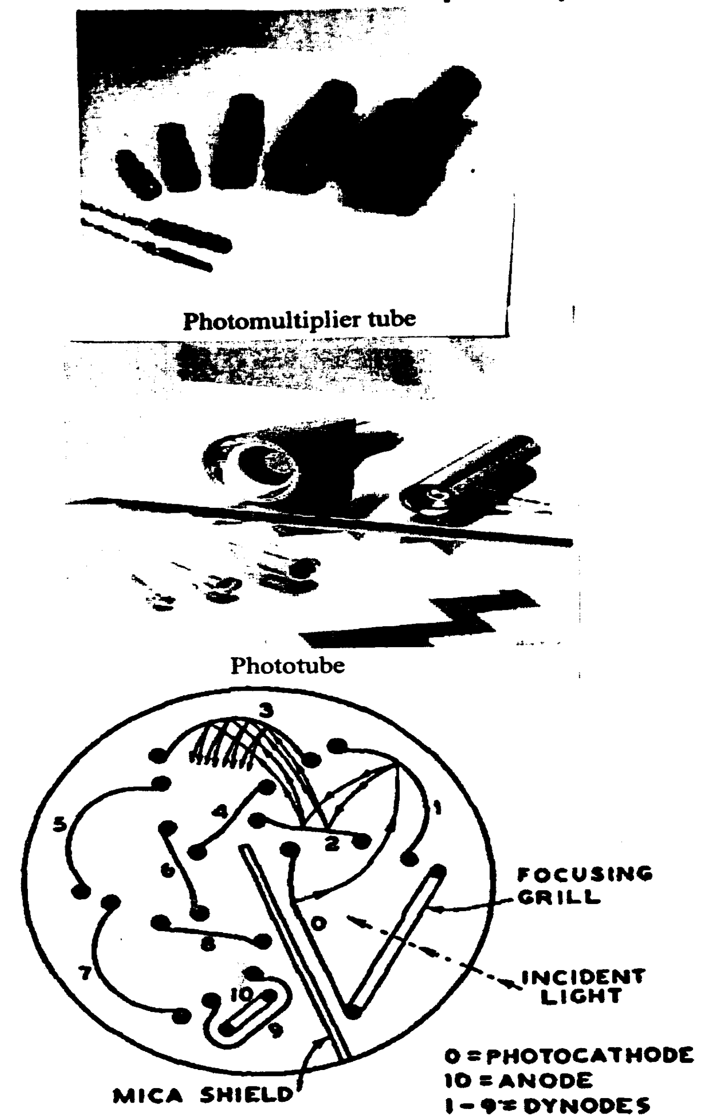
وتعتمد هذه الكشافات على أن فوتونات الأشعة المرئية والفوق بنفسجيةلها القدرة على طرد الأليكترونات وذلك اذا اصطدمت بأسطح عوملت بمركبات القلويات وأكاسيد الأراضي القلوية ، وقد يؤدي امتصاص فوتونات الأشعة الفوق بنفسجيةالى حركة الأليكترونات المرتبطة الغير موصلة الى المنطقة الموصلة للمعادن ويتولد عن ذلك تيار كهربي يتناسب طرديا مع قوة الاشعاع والفوتونات الممتصة.

وتتكون أنابيب phototubes من الآتي:

١- زجاجة مفرغة بها نافذة من الكوارتز quartz window
٢- مهبط cathode (القطب السالب) وهو شبه اسطواني وسطحه الداخلي مغطى بمواد ذات سطح يسهل انفصال أليكتروناته مثال القلويات وأكاسيد الأراضي القلوية.
٣- مصعد Anode (القطب الموجب) على هيئة سلك مركزي. ويجب توفر فرق جهد حوالي ٩٠ فولت بين المهبط والمصعد.



شكل (٢-٩) الخلايا الضوئية ذات الطبقة الحاجزة Barrier layer photocell



شكل (٢-١٠) الخلية الضوئية والضوئية المركبة Multiplier phototube

تسقط الأشعة فوق البنفسجية خلال نافذة الكوارتز على سطح الكاثود المخلخل الفوتونات وتمتص الفوتونات حيث تنتقل طاقتها الى الأليكترونات الضعيفة الارتباط بالسطح ثم تهرب الأليكترونات من السطح وتتجمع عند الأنود فيمر التيار بالدائرة.

ويتناسب تيار الفوتونات مع قوة الاشعاع الساقط ، وتبلغ قيمة التيار حد ضئيل جدا 10^{-11}ampere ولذلك لابد من تكبيره حتى يتناسب مع وسائل التسجيل المتاحة لقرائته. أما أنابيب التكبير الضوئية (photomultiplier tube (PMT فانه يستخدم مجال كهربي ليسرع من هروب الأليكترونات في الأنبوبة الضوئية مكسبا اياها طاقة أعلى وعندما تصطدم بسطح شبه موصل فانها تثير عدد اكبر من الأليكترونات للهرب وهذه قد تسرع ثانية الى سطح آخر وهكذا.

ويسمى السطح النشط اليكترونيا Dynode وبعد حوالي تسعة تكبيرات قد يكبر الفوتون الأصلي حوالي مليون مرة ، ولذلك تستخدم أنابيب التكبير الضوئية عمليا لتكبير المستويات المنخفضة جدا من الاشعاع للمحافظة على ثباتها وحساسيتها.

وحدة التسجيل (Recorder (meter

هناك طريقتان لعرض النتائج الخاصة بالامتصاص:

١- في حالة التقديرات الكمية والتي يجرى فيها التحليل على طول موجي واحد (فوتوميتر ، سبكتروفوتوميتر) فان الامتصاص أو النفاذية يقرأ مباشرة من لوحة تسجيل meter والقراءة تحدد بموضع المؤشر على التدريج في لوحة التسجيل أو تكون القراءة رقمية Digital على شاشة.

٢- اما في أجهزة سبكتروفوتوميتر التي يقاس فيها الامتصاص كدالة في الطول الموجي (قياس الامتصاص على أطوال موجية مختلفة) فتعرض النتائج في صورة رسم بياني يوضح كثافة الامتصاص على الأطوال الموجية المختلفة.

جهاز سبكتروفوتوميتر وحيد الحزمة Single Beam Spectrophotometer

يوجد في هذه الأجهزة مسار واحد للأشعة من المصدر الضوئي الى وحدة القياس ، ويتم تشغيل الجهاز عادة على طول موجي معين يمكن توجيهه الى العينة بواسطة مفتاح

في الجهاز يتصل بالحزوز لتعديل وضعه الهندسي في المكان المناسب لتوجيه هذا الطول الموجي الى العينة ، وعلى ذلك يستخدم هذا النوع من الأجهزة في التقديرات الكمية.

ويوضح شكل (٢-١١) مسار الأشعة فى جهاز سبكتروفوتوميتر وحيد الحزمة

جهاز سبكتروفوتوميتر مزدوج الحزمة Double Beam Spec

هذه الأجهزة مزودة بمجزيء للأشعة Beam splitter حيث يقوم بتقسيم أشعة المصدر الى حزمتين احداهما تمر على العينة والأخرى تمر على المذيب أو العينة المقارنة. وفي هذا النوع من الأجهزة يمكن تغيير الطول الموجي المستخدم في التقدير بطريقة ذاتية ومستمرة وبذلك يمكن تقدير الامتصاص على الأطوال الموجية المختلفة والحصول على طيف الامتصاص وتسجيله وتستخدم هذه الأجهزة في التحليل الوصفي عندما يكون الغرض هو الحصول على طيف الامتصاص لمركب تحت الدراسة. ويوضح شكل (٢-١٢) مسار الأشعة فى جهاز سبكتروفوتوميتر ثنائى الحزمة.

ويوجد تصميمان من Double Beam Spectrophotometer وهما:

١- اجهزة الحزمة المزدوجة في الوقت Double beam in time arrangement

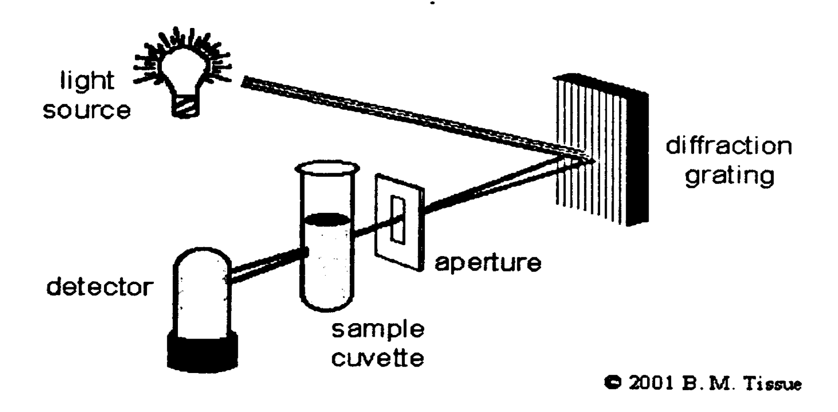
وهنا بعد خروج الأشعة من وحدة فصل الأشعة فانها تتناوب بين العينة والبلانك بتردد ثابت وعلى ذلك فان هاتين الحزمتين المتناوبتين تسقطان على خلية ضوئية واحدة.

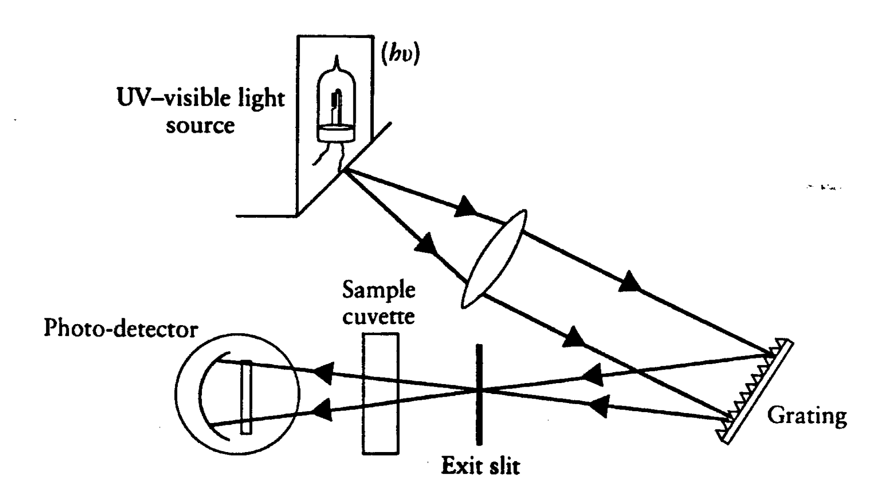
٢- اجهزة الحزمة المزدوجة في الفراغ Double beam in space

وهنا يوجد مساران ضوئيان منفصلين ينتجان من أشعة المصدر بواسطة مجزيء وعدة مرايا تسقط احداهما على العينة والأخرى على البلانك وتسقط بعد ذلك كل حزمة على خلية ضوئية مستقلة ويجري تقدير الامتصاص بمقارنة نسبة كثافة الأشعة الساقطة على الخليتين.

تطبيقات الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية والمنطقة المرئية من الطيف:

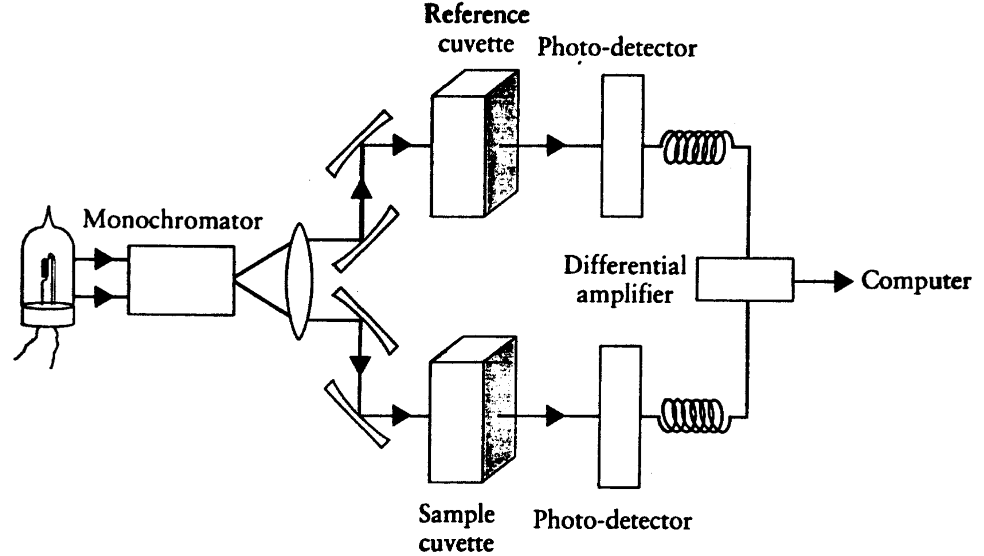
يعتبر التحليل الطيفي للامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية والمنطقة المرئية من الطيف أكثر الطرق المستخدمة في التحليل الكمي والى حد ما في التحليل الوصفي للكشف عن الجزيئات أو مجموعات كيماوية معينة في المركبات ، ويمكن تقسيم مناطق طيف الامتصاص الى أربعة مناطق على حسب نوع الانتقال الأليكتروني الى مايلي:





شكل (٢-١١) جهاز سبكتروفوتوميتر وحيد الحزمة

Single beam spectrophotometer



شكل (٢-١٢) جهاز سبكتروفوتوميتر ثنائي الحزمة

Double beam spectrophotometer

أولا: طيف الانتقال الأليكتروني $n \rightarrow \pi^*$ ويطلق عليه R- Bands

ويظهر هذا الطيف نتيجة امتصاص مجاميع كيميائية غير مشبعة توجد في الجزيء مثل مجاميع NO_2 ومجاميع C=O, C=C وهي مايطلق عليها المجاميع الكروموفورية chromophoric groups ويتميز هذا الطيف بأن الامتصاص الجزيئي له molar absorptivities (ε max) يكون ضعيف (أقل من ١٠٠ لتر/مول.سم).

ثانيا: طيف الانتقال الأليكتروني $\pi \rightarrow \pi^*$ ويطلق عليه K- Band

ويظهر هذا الطيف نتيجة امتصاص المجاميع المتبادلة الروابط المشبعة مع أخري غير مشبعة conjugated π - system مثل مركب butadiene - C= C- C= C - or mesityl oxide وهذا الطيف من الامتصاص يحدث أيضا في الجزيئات الأروماتية المستبدل عليها مجاميع كروموفورية مثال مركب styrene, benzaldehyde, or acetophenone

ويتميز هذا الطيف بأن الامتصاص الجزيئي له (ε max) molar absorptivities يكون قوي (أكبر من ١٠٠٠٠ لتر/مول.سم).

ويستعرض جدول (٢-٢) طيف الامتصاص لبعض المجاميع الكروموفورية

ثالثا: طيف امتصاص الجزيئات الأروماتية ويطلق عليها B- Bands (Benzenoid)

البنزين يظهر طيف عريض للامتصاص broad absorption band يحتوي على multiple peaks في منطقة near UV بين طول موجي λ_{max} (230 – 270 mμ)

يحتوي البنزين على ثلاث مدارات من النوع π ويحتوي كل منها على اثنين من الأليكترونات ، ويحتوي البنزين أيضا على ثلاث مدارات من النوع π^* غير مشغولة بالأليكترونات ولذلك تحدث ثلاثة امتصاصات في الحلقة العطرية نتيجة للانتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ فيحدث في البنزين امتصاص ذو كثافة مرتفعة (ϵ_{max} = 6000) عند ١٨٤ نانوميتر، و الامتصاص الثاني (ϵ_{max} = 7900) عند ٢٠٤ نانوميتر ، أما الامتصاص الثالث فيظهر عند (ϵ_{max} = 600) عند ٢٥٦ نانوميتر ويرمز لهذه الامتصاصات بالرموز E_1 , E_2 , B على التوالي.

ويستعرض جدول (٢-٣) مناطق إمتصاص البنزين وتأثير الاستبدالات عليها.

عند استبدال chromophoric group على حلقة البنزين فان B-bands تمتص عند طول موجي أكبر بالمقارنة بحلقة البنزين بدون استبدال أي تؤدي الى سحب حلقة البنزين لتمتص ناحية longer λ_{max}

رابعا: طيف امتصاص مجاميع الايثيلين ويطلق عليها E- Bands (Ethylenic)

تميز التركيبات الأروماتية كما هو في حالة B-bands ويمكن تقسيم هذا الطيف الى مجموعتين هما E_1 - band ، E_2 – band

عند الاستبدال على حلقة البنزين بمجاميع أوكسوكرومية Auxochromic groups (مثل مجاميع $-NH_2$ ، $-OH$ والهالوجينات) وهي التي تحتوي على ذرات بها أليكترونات غير مشتركة في تكوين الروابط lone pair of electrons مثل ذرة الأكسيجين التى تحمل زوجين من الأليكترونات وكذلك النتروجين تحمل زوج واحد من الأليكترونات والكلور يحمل ثلاثة أزواج من الأليكترونات غير مشتركة في الروابط فان

جدول (٢-٢) مناطق الامتصاص لبعض المجاميع الكروموفورية

Chromophore	Compound types	Example	Solvent	Absorption Band λ_{max} (mμ)	ε_{max}
Alkene	RCH=CHR	ethylene	Vapor	165 193	15,000 10,000
Alkyne	R-C≡C-R	2-octyne	Heptane	195 223	2,100 160
Ketone	R_2 - C=O	acetone	Hexane	189 270	900 15
Aldehyde	R-COH	Acetaldehyde	vapor, hexane	180 290	10,000 17
Carboxyl	R-COOH	acetic acid	95% ethanol	208	32
Amido	R-C(O)-NH_2	acetamide	Water	220	63
Nitro	RNO_2	nitromethane	methanol	201	5,000
Nitrate	R-ONO_2	n-butyl nitrate	95% ethanol	270	17
Nitroso	R-N=O	nitroso butane	ethyl ether	300 665	100 20
Ntrile	-C≡N			< 160	
Sulfoxide	-S=O		alcohol	210	
Sulfone	O=S=O			<180	
Azo	R-N=N-R	azomethane	95% ethanol	338	4

جدول (٢-٣) مقارنة بين إمتصاص البنزين والبنزين المستبدل

Compound (Chromophore)	Substituted Chromophore $\pi \rightarrow \pi^*$ Band λ_{max} (nm)	Substituted Chromophore $n \rightarrow \pi^*$ Band λ_{max} (nm)	Benzene Fine Structure Band λ_{max} (nm)
R_2 - C=O	180	290	-
Benzene	-	-	255
Benzaldehyde	244	328	280
R – NO_2	201	271	-
Benzene	-	-	255
Nitrobenzene	252	330	280

اليكترونات ذرات هذه المجاميع تـدخل في التـأرجح مـع الحلقـة π -electron system ممـا يسهل حدوث انتقال أليكتروني من π → π* مما يجعل الحلقة تمتص عند طول موجي أكبر من عدم وجود الاستبدال أي تسبب ما يسمى Red shift of the E-bands ويتميز هذا الطيف بأن الامتصاص الجزيئي له molar absorptivities (ε max) يتراوح بين ٢٠٠٠ - ١٤٠٠٠ لتر/مول.سم).

ويوضح جدول (٢-٤) تأثير الاستبدالات بمجاميع أكسوكرومية على إمتصاص البنزين.

عندما تفصل رابطة فردية بين مجموعتي chromophore مثال -C=C-C=C- فانه يحدث تبادل conjugation بينما حيث تطوف أليكترونات π على أربعة ذرات على الأقل أي تكون الأليكترونات delocalized مسببة انخفاض في طاقة الانتقال π → π* وبذلك تزداد شدة الامتصاص ويزداد حدوثه ، وعلى ذلك نجد أن π → π* يحدث قرب 165 mμ في الاثيلين بينما يحدث قرب 217 mμ في حالة مركب 1,3-butadiene وهكذا تتحرك قيمة الامتصاص نحو النطاق المرئي باستطالة الألكين المتبادل فتمتص حلقة البنزين (1, 3, 5 - hexatriene (benzene π → π* بالقرب من 258 mμ

يسهل كشف امتصاص الكربونيل n → π* في المدى 270 - 290 mμ وتفيد في تحديد الكيتونات والألدهيدات.

ويوضح جدول (٢-٥) مناطق الامتصاص لبعض الألدهيدات والكتيونات

كما يوضح جدول (٢-٦) مناطق إمتصاص بعض الحلقات الخماسية الغير متجانسة.

جدول (٢-٤) تأثير الاستبدال بمجاميع اكسيوكرومية على امتصاص البنزين

Compound	E_2-band λ_{max} (nm)	B-band λ_{max} (nm)	Solvent
Benzene	204	256	Hexane
Chlorobenzene	210	265	Ethanol
Thiophenol	236	269	Hexane
Anisole	217	269	2% methanol
Phenol	210.5	270	Water
Phenolate anion	235	287	Aq. Alkali
O-Catechol	214	276	water, pH 3
O-Catecholate anione	236.5	292	water, pH 11
Aniline	230	280	Water
Anilinium cation	203	254	Aq. Acid
Diphenyl ether	255	272 278	Cyclohexane

جدول (٢-٥) مناطق الامتصاص لبعض الألدهيدات والكتيونات

Compound	K-band λ_{max} (nm)	R-band λ_{max} (nm)	Solvent
Methyl vinyl ketone	212.5	320	Ethanol
Methyl isopropenyl ketone	218	315	Ethanol
Acrolein	210	315	Water
Crotonaldehyde	220	322	Ethanol
Crotonaldehyde	214	329 341 352	Isooctane

جدول (٢-٦) إمتصاص بعض الحلقات الخماسية الغير متجانسة

Compound	Band I λ_{max}	Band II λ_{max} (nm)	Solvent
Cyclopentadiene	200	238.5	Hexane
Furan	200	252	Cyclohexane
Pyrrole	209	240	Hexane
Thiophene	231	269.5	hexane
Pyrazole	214	-	Ethanol



الفصل الثالث

جهاز التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء

IR Spectrophotometer

مقدمة:

يستخدم جهاز التحليل الطيفى باستخدام الأشعة تحت الحمراء للتعرف على المجاميع الفعالة فى الجزئيات وكذلك رسم طيف كامل للمركب يمكن من خلاله تتبع التركيب الكيماوى. ويوضح شكل (٣-١) جهاز التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء.

عندما يمتص الجزيئ الأشعة تحت الحمراء يحدث اهتزاز لذرات هذا الجزيء أو يحدث انتقال اهتزازي للذرات بالنسبة لبعضها البعض في الجزيء مما يؤدي الى تغير دوري في طول الروابط الكيميائية أو تغير في الزوايا بين الروابط الكيماوية في الجزيء ، وهذ تنتج كل حركة اهتزازية من حركة ذرتين أو قد تشمل مجموعة من الذرات ، ويتوقف عدد الانتقالات الاهتزازية في الجزيء على عدد الذرات المكونة له.

ويتوقف طول الموجة أو التردد الذي يحدث عنده هذا الامتصاص على عوامل عديدة منها كتلة الذرة relative masses of atomS وكذلك قوة الروابط المكونة للجزيء the force constants of the bonds و الشكل الهندسى للذرات في الجزيء the geometry of the atoms

عدد الانتقالات الاهتزازية في الجزئ الواحد:

في حالة الجزيئات الخطية = 3N – 5، في حالة الجزيئات غير الخطية = 3N – 6 حيث N تمثل عدد الذرات في الجزيء.

وتمثل الانتقالات الاهتزازية مستويات الطاقة الاهتزازية في الجزيء حيث تمثل كل انتقالة اهتزازية مستوى طاقة اهتزازي وينتقل الجزيء من مستوى الطاقة الاهتزازي الأدنى الى مستويات الطاقة الاهتزازية الأخرى (حدوث حركة اهتزازية) نتيجة لامتصاص طاقة الأشعة تحت الحمراء.



شكل (٢-١) جهاز التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء IR

وتتوقف طاقة الأشعة الممتصة لأي من الحركات الاهتزازية في الجزئ على نوع الذرات وطبيعة الروابط الكيميائية المشتملة في الحركات الاهتزازية.

ويقع طيف الأشعة تحت الحمراء بين الأشعة المرئية وأشعة الموجات القصيرة ، والطول الموجي للأشعة تحت الحمراء يكون من μ 500 - 0.7 وعادة تقاس هذه المنطقة من الطيف بوحدات الرقم الموجي wave numbers وعلى ذلك فهي تشغل المنطقة من

14,000 - 20 cm^{-1}

ويعبر عن أماكن امتصاص IR بوحدات cm^{-1} reciprocal centimeter, وهذه الوحدات تتناسب طرديا مع طاقة التذبذب ، والأجهزة الحديثة تكون خطية linear بوحدات cm^{-1}

وللتحويل من وحدات الميكرون أو الميكروميتر μ الى وحدات مقلوب السنتيميتر cm^{-1}

Since, $1\ \mu = 10^{-4}$ cm,

Therefore, $0.7\ \mu = 0.7 \times 10^{-4}$ cm $= 1 / 0.7 \times 10^{-4}$, $= 14,286\ cm^{-1}$

$500\ \mu = 500 \times 10^{-4}$ cm $= 1 / 500 \times 10^{-4} = 20\ cm^{-1}$

وقديما كان يستخدم طول الموجة λ وكانت بوحدات micro meter (10^{-6}m or 10^{-4} cm)
وكان يطلق عليها (μ) microns

وتنقسم منطقة الأشعة تحت الحمراء الى ثلاث مناطق هي:

1. Near IR: 0.75 - 2.5 μ or 14,000 - 4,000 cm^{-1}
2. Mid IR: 2.5 - 15 μ or 4,000 - 650 cm^{-1}

وهذه المنطقة تعتبر أكثر المناطق استخداما في أجهزة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء.

3. Far IR: 15 - 500 μ or 650 - 20 cm^{-1}

ونتيجة لحركة الذرات وتذبذبها في الجزئ واختلاف كتلة الذرات المعينة وقوة الروابط بينها فان درجة ترددات التذبذب vibrational frequencies تختلف من جزيء الى آخر معطية مايعرف بالبصمة finger print والتي تميز كل جزيء عن الآخر بمعنى أن كل جزيء له finger print vibrations خاص به. بالاضافة إلى ذلك فان هناك تذبذبات اخرى تتوقف على المجاميع الفعالة في الجزيء.

أنواع الانتقالات الاهتزازية Types of molecular vibrations

١. التمدد الاهتزازي Stretching vibrations

ينشأ التمدد الاهتزازي بين ذرتين مرتبطتين معا باستمرار along the bond axis مع تغيير المسافة بين الذرتين دون تغيير المحاور أو زوايا الجزئ ، أى على نفس محور الرابطة وبنفس الزوايا بين الروابط. وتتماثل ترددات الذرتين في جزيء ما مع حركة كرتين متصلتين بياي مرن بحيث يمكن لهذا الياي أن يسمح للذرتين أن تبتعد عند شد السلك وكذلك بالاقتراب عند ترك الياي يعود مرة أخرى.

أنواع التمدد الاهتزازي:

١- تمدد إهتزازي بسيطا أومعزول isolated وهو يشمل تمدد رابطة واحدة مثل الرابطة الفردية في جزيء H-Cl أو الرابطة الكربونيلية -C=O

٢- تمدد إهتزازي مزدوجا coupled وهو يشمل تمدد رابطتين او اكثر في نفس الوقت مثل تمدد الرابطتين في جزيء H-C-H حيث نجد ذرة كربون ترتبط بذرتي هيدروجين أي رابطتين وهنا يحدث نوعين من التمدد الاهتزازي المزدوج:

- تمدد مزدوج متماثل symmetrical stretching (v_s) وفيه يحدث تمدد او انكماش للرابطتين في نفس الوقت.
- تمدد مزدوج غير متماثل unsymmetrical stretching (v_{As}) وفيه تتمدد احدى الروابط بينما تنكمش الأخرى في نفس اللحظة وبطريقة متزامنة.

٢. الانحناء الاهتزازي Bending vibrations

وهذه الترددات يتغير فيها زوايا الروابط (الزاوية بين الرابطتين) مؤديا الى حركة الذرات في اتجاه آخر غير اتجاه محور الرابطة وقد تكون حركة الذرات في مستوى الرابطتين أو خارج مستوى الرابطتين.

أنواع الانحناء الاهتزازي:

أ- حركة مركبة (تلويح) Wagging

حيث تتأرجح الوحدة التركيبية (الغير خطية) ثلاثية الذرة الى الخلف والى الأمام خارج مستوى الاتزان المشكل من الذرة وروابطها out of plane bending

ب- حركة متأرجحة (اهتزاز) Rocking

حيث تتأرجح الوحدة التركيبية الى الخلف والى الأمام في نفس مستوى الاتزان in the same plane

جـ- حركة التوائية Twisting

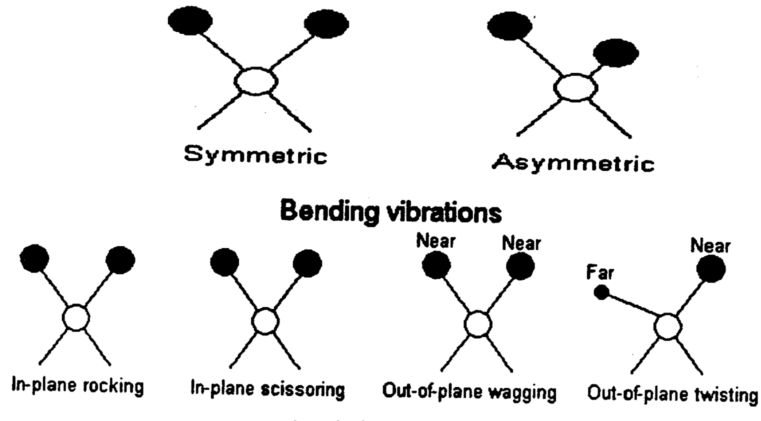
حيث تلف الذرات حول الرابطة بينها وبين باقى الجزيء خارج مستوى الاتزان out of plane

د- حركة مقصية Scissoring

حيث تتقارب وتتباعد الذرتان الغير مرتبطتان سويا بالنسبة لبعضهما بحركة تشبه حركة المقص في نفس مستوى الاتزان in the same plane

ويوضح شكل (٢-٢) التمدد الإهتزازى وكذلك أنواع الانحناء الإهتزازى

Stretching vibrations



شكل (٣-٢) التمدد والانحناء الإهتزازى

وفي اطار الجزيئات المتعددة الذرات تتردد هذه الذبذبات المختلفة بقيمة محددة اي أن ترددات التمدد والانحناء الجزيئي مقننة quantized وعند تعرض الجزيء للأشعة الكهرومغناطيسية ذات نفس تردد الذبذبة الجزيئية يحدث الامتصاص وتتوافق الموجات وتزداد سعة التردد وعندما يعود الجزيء الى الاستقرار فان الطاقة الفائضة تتسرب على هيئة حرارة.

النمط الاهتزازي Modes of vibration

يمكن التكهن بعدد قمم الامتصاص لجزيء معين بتقدير عدد الذبذبات الجزيئية المسموح بها في الجزيئات متعددة الذرات.

في الجزيء المتعدد الذرات يوجد عدد n من الذرات وعلى هذا يمكن تحديد موضع كل ذرة في الفراغ بتحديد قيم المحاور الثلاثة اي أننا نحتاج لتعريف 3n قيمة لتحديد موضع جميع ذرات الجزيء اي أن الجزيء له 3n درجات حرية ، من هذه القيم الثلاثة تحدد الانتقالات الجزيئية كوحدة متكاملة ، وهناك ثلاثة درجات أخرى لوصف دوران

الجزيء عندما لا يكون خطيا وهكذا يحدث للجزيء الغير خطي 3n-6 نوع من التذبذب العادي والتي تمتص الأشعة الكهرومغناطيسية ، وبما أن الجزيئات الخطية تتطلب محورين فقط لوصف دورانها فان لها 3n-5 نوع من التذبذبات.

ولكن في الواقع نلاحظ أن للجزيئات عدد أكبر من الذبذبات عن القيمة المحسوبة سواء 3n-6 or 3n-5 وأحيانا يكون عدد الذبذبات أقل من القيمة المحسوبة ويمكن تفسير ذلك كالآتي:

١. في حالة العدد الزائد من ذبذبات الامتصاص يرجع السبب الى:

أ. الايقاعات المتراكمة combination tones $\bar{v}_1 + \bar{v}_2$

ب. التسميعات over tones $٢\bar{v}, 3\bar{v}, ...$

جـ. ايقاعات الاختلاف difference tones $\bar{v}_1 - \bar{v}_2$

٢. في حالة العدد الأقل من ذبذبات الامتصاص يرجع السبب الى:

أ - الجزيئات المتماثلة بحيث لا يتأثر قيمة عدم الاستقطاب الكهربي بامتصاص الاشعاع الكهرومغناطيسي.

ب - قد تتماثل بعض الترددات المعينة في حالة الجزيئات عالية التماثل وبذا تتولد ذبذبة واحدة فقط.

ج - شدة تضاهي بعض الذبذبات حتى يصعب تفرقتها بالأجهزة المتاحة.

د - شدة ضعف بعض الذبذبات حتى يصعب تسجيلها بالأجهزة المتاحة.

هـ - بعض الذبذبات الأصلية تنحرف عن نطاق تسجيل الجهاز المستعمل.

التغيرات في طاقة الدوران Rotational energy change

يتولد عن امتصاص الاشعاع في نطاق IR & microwaves تغيرات في طاقة الدوران فقط ولا يحدث ذلك الا عند حدوث تغير في عزم الاستقطاب Dipole moment أثناء الدوران ومن ذلك لابد أن يمتلك الجزيء عزم استقطاب مستديم ، ولا تسجل الانتقالات الدورانية الخالصة الا في حالة الغازات حيث يقل تحديد الانتقالات الدورانية للسوائل والجوامد فتتفلطح broaden بدلا من اعطاء خطوط حادة كمستديمة sharp

الاستضواء fluorescence

عندما تمتص المادة أو تتداخل مع الاشعاع الكهرومغناطيسي فانها تثار وتزداد طاقتها ويمكن بعد ذلك لهذه المادة المثارة أن تبث فوتونات مختلفة الطاقة حتى تصل الى الحالة المستقرة ، أي أنه عند عودة تلك الجسيمات الى مستويات الطاقة الأقل تشع فوتونات ذات طاقة محددة وطول موجة موحد ولكن في بعض الأحيان يمتص النظام المشع كم عالي من الطاقة والذي يثير بعض من الأليكترونات الى مستويات الطاقة الأعلى بكثير من مستوى استقرار الجزيء، وفي هذه الحالة يمكن للنظام العودة الى مستوى الاستقرار مباشرة باطلاق فوتونات لها نفس طاقة الفوتونات الممتصة أو يمكن للأليكترونات العودة الى الحالة المستقرة على مراحل متسلسلة باطلاق فوتونات ذات طاقة مقابلة لفرق الطاقة بين مختلف المراحل أي ذات طاقة أقل وطول موجة أطول من الممتصة أصلا وهذا ما يعرف بالاستضواء fluorescence

مستويات الطاقة الاهتزازية Vibrational energy levels

ان الانتقالات الاهتزازية في الجزيء لا تتم بصورة عشوائية ولكنها تحدث بتردد معين (تردد الحركة الاهتزازية vibrational frequency) والذي يحكم بكتلة الذرات وقوة الرابطة الكيميائية المشتملة في الحركة الاهتزازية ، وعلى ذلك فان كل حركة اهتزازية تمثل مستوى طاقة اهتزازيا في الجزيء ، وكما سبق أن ذكرنا فان عدد هذه المستويات هو 3N-5 or 3N-6 في الجزيئات الخطية وغير الخطية على التوالي.

وعلى ذلك فانه في الاهتزاز الجزيئي ينتقل الجزيء من مستوى الطاقة الاهتزازي الأدنى الى أحد مستويات الطاقة الاهتزازية الأعلى.

الجزيئات في حالتها العادية على درجة حرارة الغرفة توجد عادة في مستوى الطاقة الاهتزازي الصفري $v = 0$ وهو مستوى فردي ، وعندما يمتص الجزيء طاقة في نطاق الأشعة تحت الحمراء فيحدث الانتقال الاهتزازي بحيث يكون التغير في رقم الكوانتم الاهتزازي يساوي الوحدة $\Delta v = 1$ أي أن الانتقال يتم من $v=0$ الى $v=1$ ويطلق على هذا الانتقال الاهتزازي الأساسي fundamental vibration وهو عادة الانتقال الذي يشاهد في طيف الامتصاص للأشعة تحت الحمراء.

مستويات الطاقة الاهتزازية في جزيء الماء:

من المعروف ان جزيء الماء غير خطي ويحتوي على ثلاث ذرات وبذلك يحتوي مستوى الطاقة الاهتزازي الأول v=1 على ثلاثة مستويات وذلك لأن:

عدد مستويات الطاقة الاهتزازية في الجزيء غير الخطي هي 3N-6، وعلى ذلك يكون عدد مستويات الطاقة الاهتزازية في الماء تكون

$$3N-6 = (3 \times 3) - 6 = 3$$

وبذلك يتضح من رسم الـ IR لجزيء الماء ثلاثة حركات اهتزازية:

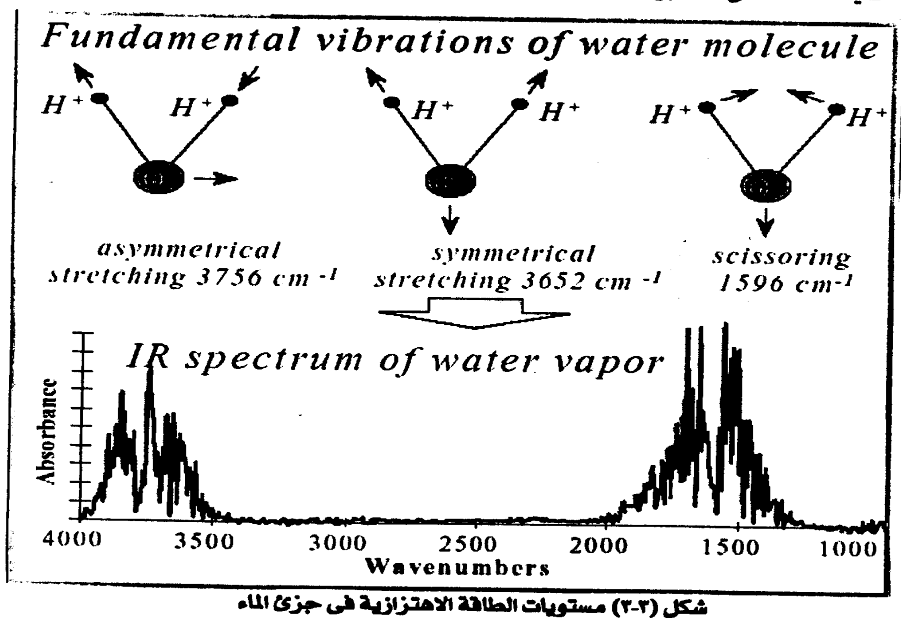
١. تمدد متماثل — Symmetrical stretching ν_s OH (3652 cm^{-1})

٢. تمدد غير متماثل — Asymmetrical stretching ν_{As} OH (3756 cm^{-1})

٣. حركة مفصلية تؤدي الى التغير في زوايا الروابط

Bending scissoring δ_s HOH (1596 cm^{-1})

ويوضح شكل (٣-٢) مستويات الطاقة الاهتزازية في جزئ الماء وكذلك شكل طيف الامتصاص للماء بواسطة جهاز الأشعة تحت الحمراء.



شكل (٣-٢) مستويات الطاقة الاهتزازية في جزئ الماء

التغير في العزم القطبي Dipole moment change

لكي يحدث امتصاص للأشعة تحت الحمراء في أي حركة اهتزازية يجب أن يحدث تغيير في العزم القطبي للجزيء كنتيجة للحركة الاهتزازية ، وتحت هذه الظروف فقط يمكن للمجال الكهربي المتناوب للأشعة أن يتفاعل مع الجزيء ويحدث تغييرا في حركة الذرات في الجزيء ، ومثال ذلك فان توزيع الشحنات على جزيء CO يكون غير متماثل لأن ذرة الأكسيجين تحتوي على كثافة أليكترونية أكبر من ذرة الكربون ، فعند تغير المسافة بين الذرتين مثلما يحدث في الحركة الاهتزازية فان مجال كهربي متذبذب oscillating electric field ينشأ في الجزيء وهذا يمكن أن يتفاعل مع المجال الكهربي المرتبط بالأشعة فاذا كان تردد الأشعة متوافقا مع التردد الاهتزازي الطبيعي للجزيء فانه يحدث في هذه الحالة انتقال لطاقة الأشعة يؤدي الى تغير في السعة الاهتزازية للجزيء (أي حدوث انتقال اهتزازي).

ويمكن حساب أو تقدير العزم القطبي μ للرابطة القطبية (في جزيء CO , HCl أو غيرهما) من المعادلة التالية

$$\mu = q\,l$$

حيث: q هي الشحنة على الذرات المكونة للرابطة ، l هي طول الرابطة

وعلى ذلك فان التغير الدوري في طول الرابطة (الاهتزاز) سوف يؤدي الى التغير في العزم القطبي بصورة دورية وبذلك ينشأ تيار كهربي متذبذب نتيجة للتغير في العزم القطبي.

أما في الجزيء غير القطبي مثل جزيء الهيدروجين فانه لايحتوي على عزم قطبي وبذلك لاينشأ مجال كهربي نتيجة لتمدد الرابطة ولا يحدث امتصاص.

وتتوقف كثافة الامتصاص لأي من الحركات الاهتزازية في الجزئ على حجم التغير في العزم القطبي المرتبط بهذه الحركة الاهتزازية ونظرا لأن التغير في العزم القطبي يتوقف في الأساس على قيمة العزم القطبي للمجموعة الكيميائية المشتملة في الحركة الاهتزازية فان الامتصاص يكون كبيرا في حالة المجموعات الكيميائية القطبية بينما يكون الامتصاص ضعيفا في حالة الحركة الاهتزازية للمجموعات غير القطبية في الجزيء.

قد لايحدث امتصاص لبعض الحركات الاهتزازية اما لعدم قطبية الجزيء أو الى التماثل الذي يؤدي الى عدم حدوث تغير في قطبية الجزيء القطبي ، وهناك بعض الحركات الاهتزازية في الجزيئات تكون مصحوبة بتغير صغير في قطبية الجزيء مما يؤدي الى امتصاص ضعيف يصعب تمييزه في طيف الامتصاص.

ويمكن توضيح بعض هذه الظواهر بالنظر الى جزيء CO_2 فهو جزيء خطي يحتوي على ثلاث ذرات $O = C = O$ وعلى ذلك فان لهذا الجزيء أربع حركات اهتزازية ، بالتعويض في القانون $3N - 5 = 3 \times 3 - 5 = 4$

ويمكن تلخيص تلك الحركات الأربعة فيما يلي:

١. تمدد متماثل Symmetrical stretching ν_s CO ($1340\ cm^{-1}$)

وهو لا يؤدي الى تغير في قطبية الجزيء ولذلك لا يحدث له امتصاص في طيف الأشعة تحت الحمراء ولكنه يشاهد في طيف رامان Raman spectra $1340\ cm^{-1}$ وهي طريقة أخرى للنظر الى الحركات الاهتزازية في الجزيء عن طريق تبعثر الأشعة.

٢. تمدد غير متماثل Asymmetrical stretching ν_{As} CO ($2350\ cm^{-1}$)

ويحدث فيه تمدد لأحد الروابط بينما يحدث انكماش للرابطة الأخرى وبطريقة متزامنة ويحدث له امتصاص عند $2350\ cm^{-1}$ في طيف الأشعة تحت الحمراء.

٣ & ٤. التغير في زوايا الروابط بطريقة مقصية

Bending scissoring $\delta_s\ CO_2$ ($666\ cm^{-1}$) $\delta_s\ CO_2$ ($666\ cm^{-1}$)

وهنا يحدث حركتين متماثلتين نتيجة لدرجة التماثل المرتفعة في الجزيء ولذلك يحدث لها امتصاص واحد عند $666\ cm^{-1}$

IR Instrument

تتكون أجهزة امتصاص الأشعة تحت الحمراء من نفس الوحدات التي يتكون منها أجهزة امتصاص الأشعة المرئية والفوق بنفسجية ولكنها تختلف في تركيب بعض الوحدات بحيث تتلاءم مع طاقة الأشعة تحت الحمراء.

مصدر الأشعة تحت الحمراء Source of IR radiation

تنتج أشعة IR من التسخين الكهربي لبعض المواد الصلبة الى درجة ١٥٠٠ — ٢٠٠٠ درجة مئوية ، وتوجد مصادر عديدة لانتاج هذه الأشعة منها:

١- لمبة نرنست المتوهجة Nernest glower

وتتكون من أكاسيد بعض عناصر الأرض النادرة في صورة قضيب قطره ١ — ٢ مم وطوله ٢٠ مم وعادة يكون من الزركونيوم ircomium ويتصل القضيب من أحد طرفيه ببلاتين الرصاص platinum lead ليسمح بمرور التيار الكهربي ، ونظرا لأن مرور التيار الكهربي يكون صغير جدا على درجة حرارة الغرفة فانه يتم مبدئيا تسخين القضيب بواسطة مصدر خارجي الى درجة حرارة تسمح بمرور التيار الكهربي (١٥٠٠° م) وعند مرور التيار ترتفع حرارة اللمبة الى الدرجة المناسبة واللازمة لانتاج الأشعة.

وتبث هذه اللمبة طيف بين $7100 - 1000\ cm^{-1}$ ولكنه أقل انتظاما من القضيب المتوهج.

٢- القضيب المتوهج Globar

ويتكون globar من قضيب من كربيد السليكون silicon carbide طوله ٥٠ مم وقطره حوالي ٤و. مم ويتم تسخينه كهربيا حتى درجة 1200 °C لتعطي طيف مستمر بين $5000 - 600\ cm^{-1}$

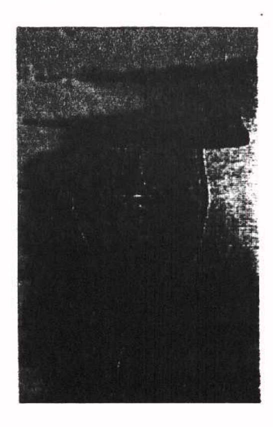
٣- السلك المتوهج Incandescent wire

ويشبه القضيب المتوهج وينتج أيضا أشعة مستمرة في منطقة الأشعة تحت الحمراء المتوسطة Mid IR

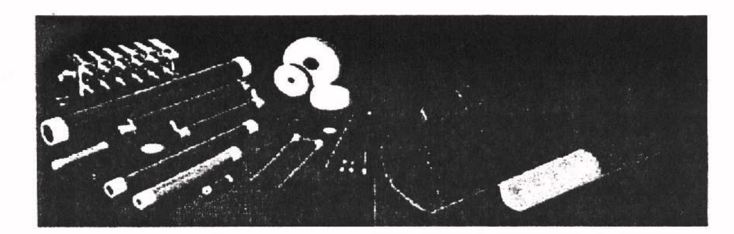
٤- لمبة الزئبق القوسية ذات الضغط العالي High pressure mercury arc lamp

وتستخدم هذه اللمبة لانتاج أشعة في منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة Far IR

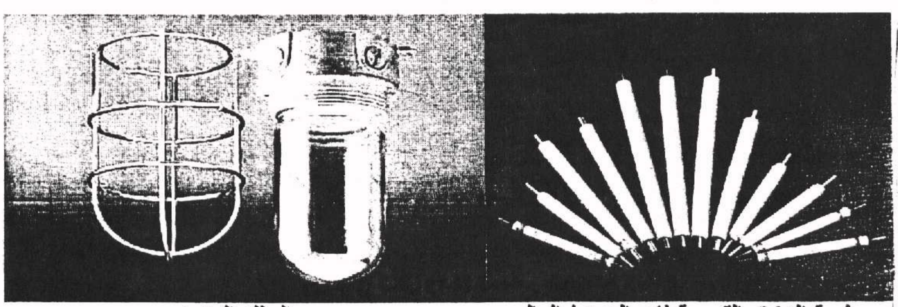
ويوضح شكل (٣-٤) المصادر المختلفة لإنتاج الأشعة تحت الحمراء



لمبة نرنست المتوهجة Nernest Glower lam



القضيب المتوهج Globar



لمبة الزئبق القوسية ذات الضغط العالي
High pressure mercury arc lamp

السلك المتوهج
Incandescent wire

شكل (٣-٤) مصدر الأشعة تحت الحمراء

موحدات أطوال الموجات Monochromators

تستخدم معظم الأجهزة الحديثة المحزوز Grating في فصل الأطوال الموجية المختلفة للأشعة بعد مرورها على العينة ، ولكن من عيوب المحزوز زيادة كمية الأشعة المبعثرة وللتغلب على ذلك يستخدم منشور أو مرشح مع المحزوز في نفس الوقت.

ونلاحظ هنا أن مكان وضع العينة يكون قبل موحد الموجات حتى لا تعوق ضبط الأشعة على الكشاف بينما في حالة أجهزة UV-VL spectrometer توضع العينة بعد موحد الموجات لتفادي أي تدهور في الاستضواء بواسطة أي من الموجات العالية الطاقة في الضوء المختلط.

ويجب أن تكون جميع مكونات الـ monochromator هذه شفافة IR transparent في مدى الأشعة تحت الحمراء أي لاتمتص هي نفسها أي جزء من الضوء في مدى أطوال الموجات تحت الدراسة، ولذلك تستخدم منشورات مصنوعة من مادة الزجاج الفلنت العادي Flint glass (المحتوي على الرصاص) ويستخدم الزجاج الصواني بنجاح في نطاق الأشعة تحت الحمراء القريبة near IR

وحدة وضع العينات Sample cell

يمكن استخدام عينات سائلة أو صلبة أو غازية ، ويختلف شكل الخلايا المستخدمة لوضع العينة عن تلك المستخدمة في أجهزة UV-VL instrument حيث يجب أن يكون سمك العينة صغير جدا ولذلك تستخدم خلايا دقيقة غالبا ما تكون معدنية لها نافذتان لمرور الأشعة خلال العينة.

وتختار المادة التي تصنع منها النوافذ بحيث لا تمتص الأشعة تحت الحمراء في منطقة القياس وعادة تستخدم هاليدات العناصر القلوية alkali halides في صناعة هذه النوافذ. ويوضح جدول (٣-١) المواد المستخدمة في صناعة نوافذ الخلايا المستخدمة في أجهزة امتصاص الـ IR.

جدول (٣-١) المواد المستخدمة في خلايا IR.

طول الموجي للأشعة التي تمر بدون امتصاص	المادة المصنع منها نوافذ الخلايا
40,000 - 625 cm^{-1}	NaCl
40,000 - 400 cm^{-1}	KBr
25,000 - 435 cm^{-1}	AgCl
10,000 - 270 cm^{-1}	Cesium bromide
10,000 - 200 cm^{-1}	Cesium iodide
20,000 - 600 cm^{-1}	Germanium
625 - 33 cm^{-1}	Polyethylene

ويلاحظ أن تعرض هذه المواد للرطوبة يؤدي الى حدوث تغير في سطحها وتصبح قادرة على الامرار الضوئي لكل الأشعة ويكون من الضروري في هذه الحالة اعادة صقل ميع سطح هذه المواد ، وتستخدم النوافذ المصنوعة من كلوريد الفضة للمحاليل المائية.

يز العينات:

العينات الغازية:

توضع العينة الغازية داخل خلية خاصة سبق تفريغها من الهواء ويختلف طول ية من بضعة سنتيمترات الى عدة أمتار (بواسطة تعدد الانعكاسات في الخلية) حيث بد خلايا اسطوانية مصنوعة من زجاج البيركس طولها ١٠ سم أما نوافذها تكون نوعة من كلوريد الصوديوم أو فلوريد الكالسيوم أو بروميد البوتاسيوم أما في حالة كيزات الضئيلة من الغاز يمكن استخدام خلية ذات امرار ضوئي كبير long path cell يصل الى ٤٠ سم بسبب تعدد الانعكاسات في الخلية وذلك باستخدام خلية قصيرة تحتوي عدة مرايا عاكسة تعكس الأشعة الساقطة بطريقة تزيد من الامرار الضوئي الى الحد لوب.

العينات السائلة:

توضع السوائل كغشاء رقيق للمركب النقي neat بسمك حوالي 0.01 mm وفي الحالة تكون العينات في حدود 1-10 mg وقد يوضع محلول المادة بين قرصين من ح كلوريد الصوديوم أو فلوريد الكالسيوم أو بروميد البوتاسيوم وتفصل الأقراص سطة 0.1 mm - 0.005 من السائل النقي أو 1 mm - 0.1 من المحلول وبذلك يجب غاظ على خلايا IR نظيفة من الماء أوالعرق أثناء تداولها بالأيدي، ويجب تنظيفها سطة المذيبات العضوية فقط ولاتغسل بالماء لأنها تذوب فيه.

ويلاحظ أنه في حالة تقدير المواد السائلة النقية (بدون مذيب) تستخدم خلية مقارنة لا تحتوي على اي مادة أما في حالة المحاليل فيوضع في خلية المقارنة نفس المذيب المستخدم في اذابة العينة ويراعى في المذيب أن يسمح بمرور الأشعة دون امتصاص في منطقة القياس وألا يتفاعل مع المادة المذابة أو يكون معها روابط هيدروجينية.

وعندما تكون العينة صغيرة جدا تستخدم خلايا دقيقة تسمى ultra micro cavity cells مع مكثف للشعاع beam condenser

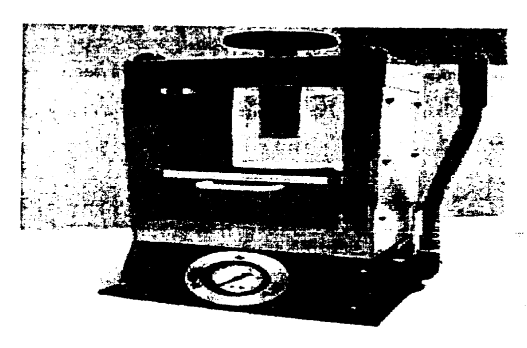
العينات الصلبة:

أما بالنسبة للمواد الصلبة عند عمل IR لها فانها تسحق في هون وتضغط في أقراص من بروميد البوتاسيوم أو كمعلق في سائل عالي الوزن الجزيئي أي في صورة فيلم رقيق يسمى mulls ، فتحضر العينة في صورة فيلم وذلك بطحن ٢ - ٥ مللي جرام من العينة ثم يضاف اليها بعض النقط من زيت هيدروكربوني يتميز بأن نقطة غليانه مرتفعة High boiling petroleum oil يسمى mulling oil مثل النيوجول Nujol أو fluorolube وهو يختلف عن النيوجول في أنه مهلجن تماما completely halogenated polymer ويحتوي على فلور وكلور ويستخدم عندما يحدث تداخل في امتصاص الحزم الهيدروكربونية hydrocarbon bands مع الطيف.

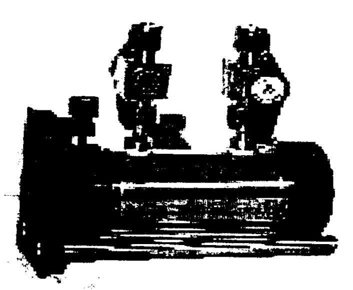
وعموما يتميز Nujol & Fluorolube بأنهما ليس لهما امتصاص في المنطقة $4000 - 250\ cm^{-1}$

ويمكن تحضير العينة في صورة قرص مضغوط pressed disc من مادة KBr أو هاليدات العناصر القلوية الأخرى عن طريق كبسها تحت ضغط مرتفع فتكون قرصا منفذا للأشعة، ويتم تحضير العينة بالخلط المتأني المتجانس لحوالي 1 mg من العينة الصلبة مع 100 mg من بروميد البوتاسيوم الجاف بواسطة طاحونة كروية ball mill ثم يكبس المخلوط تحت ضغط يصل الى $20,000 - 50,000\ lb / in^2$

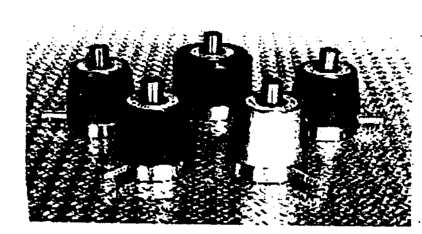
ويوضح شكل (٣-٥) الوحدة المعدنية التى تستخدم لحمل عينات IR وكذلك المكبس والطاحونة المستخدمة فى عمل أقراص العينة.



Laboratory hydrolyic press product

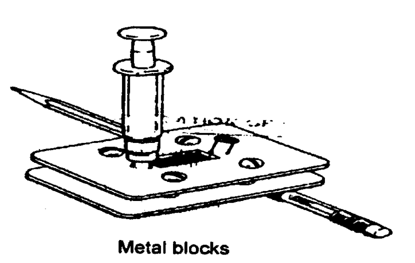


IR gas sampling supplies cells





KBr Die sets for KBr Discs



Metal blocks

شكل (٣-٥) الأدوات المستخدمة فى تجهيز العينات لعمل تحليل طيفى بالأشعة تحت الحمراء

وحدة قياس طاقة الأشعة Detector

يحتاج تقدير طاقة الأشعة تحت الحمراء الى أجهزة قياس خاصة نظرا لانخفاض طاقة فوتونات هذه الأشعة وكذلك انخفاض كثافة الأشعة المنتجة من المصادر الموجودة لهذه الأشعة ، لذلك لا يمكن استخدام الخلايا الضوئية في قياس طاقة هذه الأشعة ولكن تستخدم اجهزة القياس الحراري Thermal detectors

وعند امتصاص هذه الأشعة بواسطة وحدة القياس الحراري ترتفع درجة الحرارة بقدر يتناسب مع طاقة الأشعة ، وعلى ذلك يمكن تقدير الانخفاض في طاقة الأشعة الناتج عن الامتصاص نتيجة مرورها على العينة. ويجب ان تكون المادة المكونة لوحدات القياس الحراري ذات سعة حرارية صغيرة جدا حتى يمكن الكشف عن التغيرات الصغيرة في طاقة الأشعة المنخفضة ، كما يجب أن تكون وحدة القياس الحراري معزولة تماما عن المحيط الخارجي حتى لا تحدث تأثيرات حرارية (انتقال حراري) من الوسط المحيط.

وتوجد ثلاثة انواع من أجهزة القياس الحراري:

١- المزدوجة الحرارية Thermocouple

وهي الأكثر استخداما وتعتمد على تكوين جهد بين نقطة اتصال معدنين مختلفين نتيجة لاختلاف درجة الحرارة بينهما ، فالوصلة الأولى تتكون من شريحة معدنية من الذهب أو البلاتين تستقبل أشعة IR أما الوصلة الثانية فتتكون من عنصر سعته الحرارية مرتفعة ومعزولة عن الأشعة ، وعلى ذلك فان ارتفاع درجة الحرارة في الوصلة الأولى (الذهب) نتيجة لاستقبالها الأشعة يؤدي الى تكوين فرق جهد بينها وبين الوصلة الثانية وهذا الفرق في الجهد يمكن تقديره بواسطة دائرة خاصة أي أنه يتم تقدير فرق الجهد كدالة للتغير في درجة الحرارة.

٢- خلية جولاي Golay cell

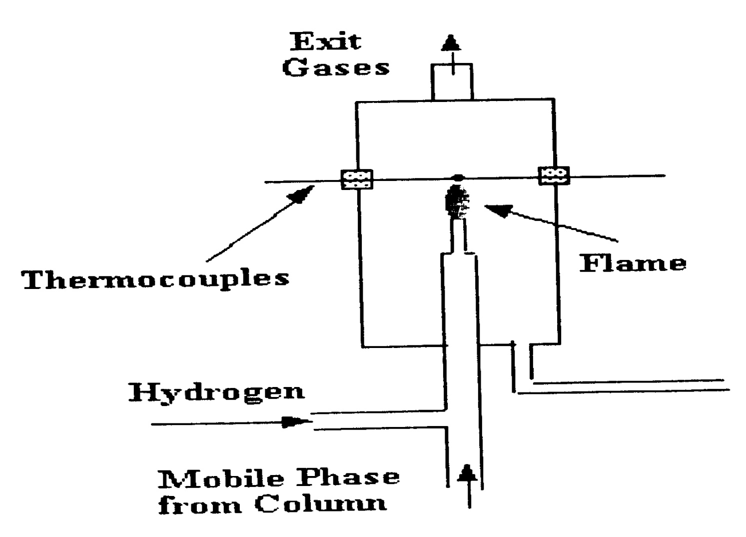
وهي تعتبر ترمومتر غازي حراري وهذا الكشاف عبارة عن خلية مملوءة بغاز ، وعند سقوط الأشعة على الخلية ترتفع درجة حرارة الغاز نتيجة امتصاص الأشعة وينتج عن ذلك ارتفاع في الضغط الذي يمكن تحويله الى اشارات كهربية ، اي أنه يتم تقدير الارتفاع في ضغط الغاز كدالة للتغير في درجة الحرارة. ويوضح شكل (٣-٦) المزدوجة الحرارية وخلية جولاى

٢- مقياس الطاقة الحرارية الاشعاعية Bolometer

يتركب الكشاف من معدن أو مادة شبه موصلة والتي تبدي تغير كبير في المقاومة الكهربية كدالة لدرجة الحرارة. أي أنه يتم تقدير التغير في المقاومة كدالة للتغير في درجة الحرارة. ويوضح شكل (٣-٧) مقياس الطاقة الحرارية الاشعاعية Bolometer

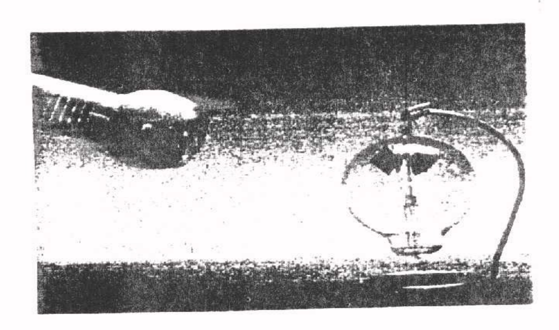


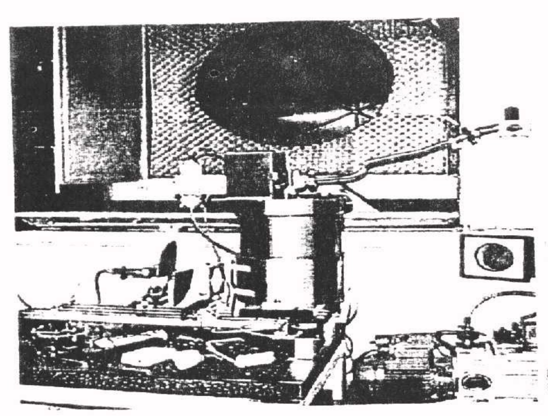
Golay cell

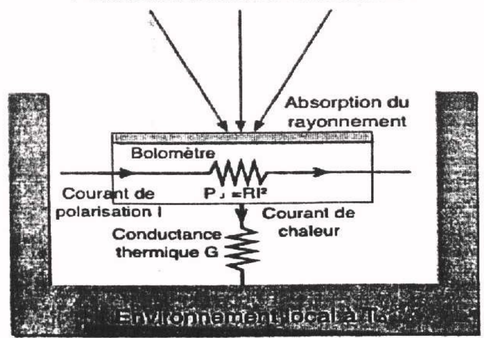


Thermocouple detector

شكل (٣-٦) المزدوجة الحرارية وخلية جولاى Thermocouple and Golay cell







شكل (٣-٧) مقياس الطاقة الحرارية الاشعاعية Bolometer .

وهذه الكشافات الثلاثة تستخدم لقياس Mid IR بالاضافة الى ان خلية جولاي يمكنها ايضا قياس Far IR ، أما بالنسبة للكشف عن اشعة near IR فانه يمكن قياس الخلية الضوئية المكبرة PMT السابق ذكرها مع UV-VL لأن طاقتها أعلى من طاقة Far & Mid IR

وحدة التسجيل Recorder

تستخدم وحدة التسجيل Recorder في أجهزة IR spectrometer لتقدير الامتصاص Absorbance عند الأطوال الموجية المختلفة (μm) wavelength أو عند الأعداد الموجية المختلفة (cm^{-1}) wave numbers وبذلك يمكن تسجيل طيف الامتصاص في المدى المرغوب ، وبذلك نجد أن وحدات التسجيل هنا تشبه تلك المستخدمة في أجهزة UV-VL spectrometers

ومعظم اجهزة IR spectrometer ذات حزمتين Double beam لأن انخفاض طاقة الأشعة تحت الحمراء وعدم ثبات المصدر الضوئي ووحدة القياس وضرورة تكبير الاشارات الكهربية الضعيفة الناتجة يجعل من التصميم ذي الحزمتين أمرا ضروريا لهذه الأجهزة.

ويتم فصل اشعة المصدرالى حزمتين متساويتين بواسطة مرآة متحركة rotating mirror وقاطع للضوء light interrupter حيث تتأرجح أشعة المصدر بالتناوب بين خلية العينة sample cell والخلية المرجعية أوالبلانك reference cell وفي النهاية يمر شعاع العينة بالتناوب الى وحدة تحليل الأشعة كما هو موضح فى شكل (٣-٨).

جهاز قياس الأشعة تحت الحمراء المزود بمحول فوربيه

Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectrometry

يختلف FTIR عن الجهاز العادي Regular IR في أن مصدر الطاقة energy source يكون Monochromatic source LASER ، كما أنه لا يحتوي على موحد للموجات monochromator وعلى ذلك فان الشعاع الساقط يحتوي على كل أطوال موجات الأشعة تحت الحمراء المتوسطة المدى $5000 - 400\ cm^{-1}$ ، كما أن الجهاز مزود بمحول Analog to digital converter لكي يسهل دمجه مع اجهزة التحليل الكروماتوجرافي GC- FTIR or HPLC-FTIR

وينقسم الشعاع الساقط الى حزمتين بواسطة Beam splitter كما هو موضح بالرسم، الحزمة الأولى لها طول موجة ثابت fixed wavelength وتوجه الى المرآة الثابتة، أما الحزمة الثانية لها طول موجة متغير variable wavelength وتوجه الى المرآة المتحركة movable mirror كما هو موضح فى شكل (٣-٩).

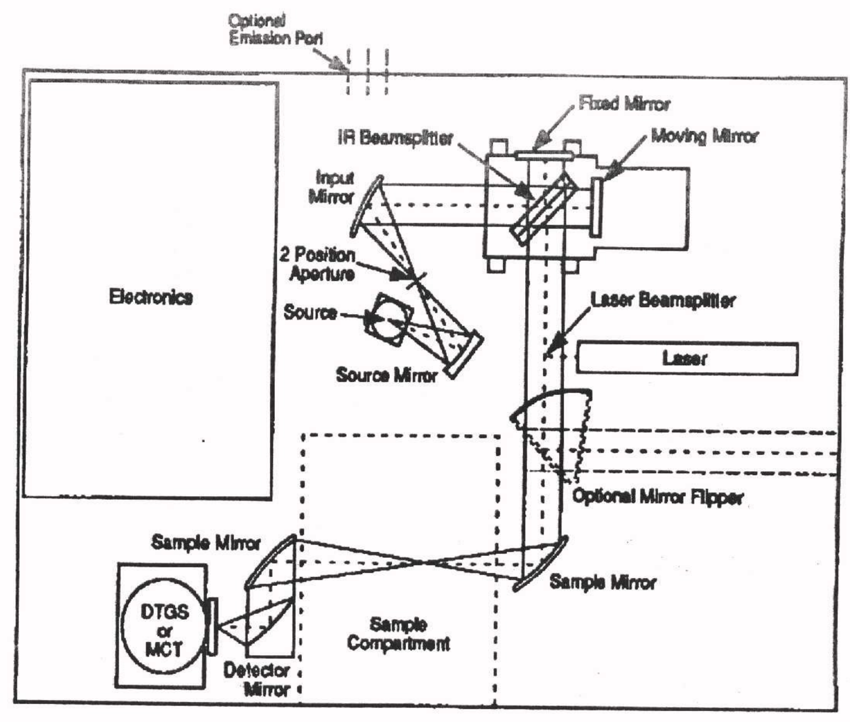
ويتميز جهاز FTIR spectrometer بأنه يقوم بتحليل العينات الصغيرة الحجم وبدرجة أسرع وأدق من الجهاز العادي، كما أنه يعطي درجة تمييز عالية جدا very high resolution

طيف رامان Raman IR Spectra

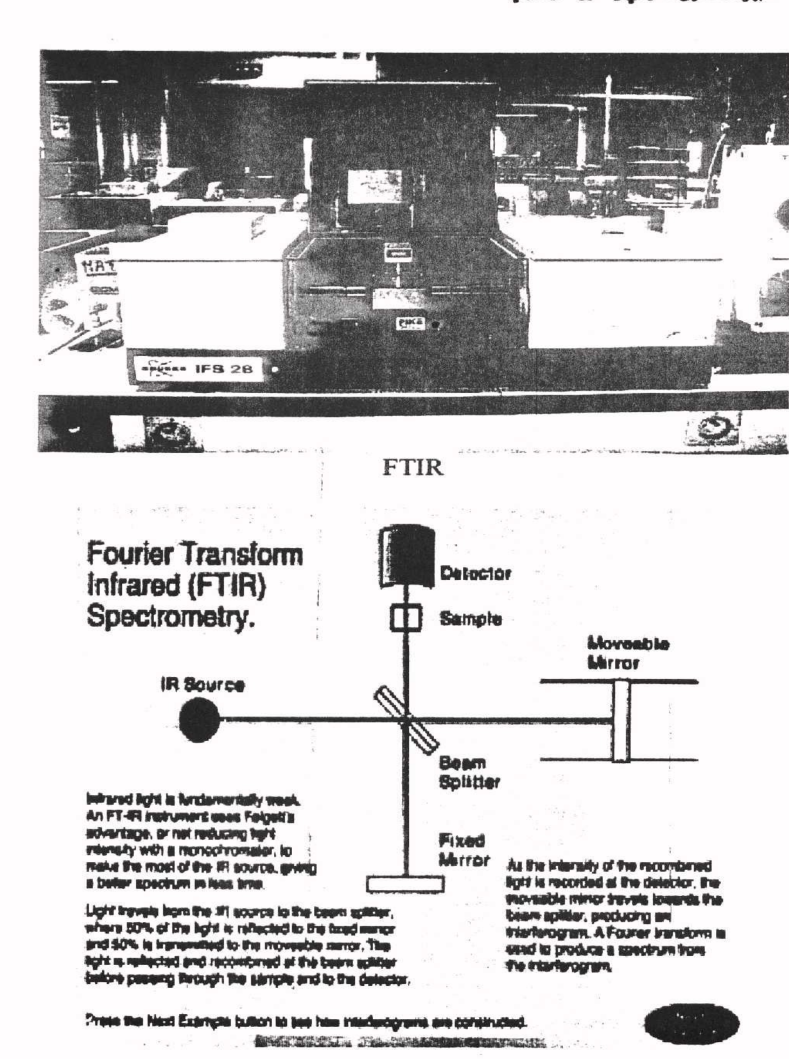
وهي طريقة أخرى للنظر الى الحركات الاهتزازية في الجزيء عن طريق تبعثر الأشعة Raman scattering وليس امتصاص الأشعة كما هو الحال في Regular IR أو FTIR

تطبيقات التحليل الطيفي لامتصاص الـ IR

يعتبر التحليل الطيفي لامتصاص أشعة الـ IR من الطرق الأساسية المستخدمة في التعرف على تركيب الجزيئات في حالتها العادية، كما يمكن استخدامه في الكشف عن التغيرات التي تحدث للجزيئات نتيجة لتفاعلها وتكوين جزيئات جديدة. ومن ناحية اخرى فانه يمكن استخدام الـ IR في التقدير الكمي للمركبات ولو أن الطرق الأخرى (الامتصاص في منطقة UV, VL) تعتبر أفضل في التقدير الكمي، ويعتبر طيف الامتصاص لأشعة IR بصمة مميزة لتركيب الجزيء ككل.



شكل (٢-٨): رسم تخطيطي لمسار الأشعة فى جهاز الأشعة تحت الحمراء



شكل (٣-٩): شكل تخطيطى لجهاز الأشعة تحت الحمراء المزود بمحول فوريه

Fourier Transform Infrared Spectrometer

ويلاحظ أن بعض الحركات الاهتزازية تكون متمركزة فقط في رابطة أو مجموعة كيميائية ولا يحدث ازدواج يذكر بين هذه المجموعات وبقية الجزيء ، وعلى ذلك فان موضع امتصاص هذه المجموعات لا يتغير من مركب الى آخر مثال ذلك الامتصاصات الخاصة بمجموعة :

$-CH_3$, $-CH_2$, -CH, -OH, -NH, -SH , C=O

ونظرا لثبات امتصاص هذه المجموعات فانها تعتبر مفيدة بدرجة كبيرة للتعرف على الجزيئات.

ويمكن تقسيم طيف الامتصاص لأشعة IR للمركبات العضوية الى :

- High frequency portion– Functional group region (3600 - 1300 cm^{-1}).
- Low frequency portion- strong absorption (aromatic) (909 -650 cm^{-1}).

أولا: المنطقة 3600 - 2700 cm^{-1}

وهي المنطقة الخاصة بتمدد الروابط بين ذرة الهيدروجين وذرة أخرى ذات وزن ذري كبير مثل الأكسيجين أو النتروجين أو الكربون ولذلك هذه المنطقة خاصة بتمدد الروابط O-H, N-H, C-H

ثانيا: المنطقة 2700 - 1850 cm^{-1}

وهي المنطقة الخاصة بتمدد الروابط الثلاثية C≡N , C≡C

ثالثا: المنطقة 1850 - 1555 cm^{-1}

وهي المنطقة الخاصة بتمدد الروابط الزوجية C=N, C=O, C=C

رابعا: المنطقة 1500 - 700 cm^{-1}

وهي منطقة البصمة fingerprint ويحدث فيها تمدد الروابط الأخرى والانحناء في الروابط وتحتوي هذه المنطقة على الامتصاصات الخاصة بالرابطة الفردية بين ذرات الكربون والذرات الأخرى غير ذرات الهيدروجين مثل C-Cl , C-O, C-C وغيرها ، أي الروابط التي تكون الهيكل الأساسي للجزيء، وفي هذه المنطقة فان أي تغير بسيط في تركيب الجزيء يؤدي الى تغيير واضح في عدد ومواضع الامتصاصات ولذلك تسمى هذه المنطقة بمنطقة البصمة.

امتصاص الجزيئات العضوية الحيوية

Absorption of Organic and Bio molecules

تمثل اجهزة التحليل الطيفي spectrophotometers او التحليل الطيفي الأليكتروني electronic spectroscopy كما يحلو للبعض تسميته - نظرا لأنه يشتمل على اثارة أليكترونية - أهمية خاصة للمشتغلين في مجال الكيمياء العضوية والحيوية والصناعة من حيث توظيفها للكشف عن وجود بعض المركبات والمجاميع الفعالة الخاصة بها وكذلك امكانية تقدير تلك المركبات كميا عن طريق تقدير امتصاصها للأشعة المرئية او الفوق بنفسجية أو حتى الأشعة تحت الحمراء حيث أن كثافة الامتصاص تتناسب طرديا مع عدد الجزيئات في مسار الأشعة.

ومن المعروف أن معظم الجزيئات الحيوية تحتوي على مجموعة أو أكثر من المجموعات المشبعة أو الحلقات العطرية التي تمتص الأشعة فوق البنفسجية ، كما تحتوي أيضا على مجاميع فعالة قطبية لها القدرة على امتصاص الأشعة تحت الحمراء كما هو موضح بجدول (٣-٢)، جدول (٣-٣).

ويرجع امتصاص الجزيئات الكبيرة للأشعة الى واحد أو أكثر من الوحدات البنائية التي تمتص الأشعة.

ويوضح جدول (٣-٢) مواضع إمتصاص بعض المجاميع الفعالة للأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء

البروتينات: ينتج الامتصاص عن الأحماض الأمينية تربتوفان ، تيروسين أو فينايل ألانين الذي يدخل في تركيب البروتين.

الليبيدات: ينتج الامتصاص عن الأحماض الدهنية التي تدخل في تركيب الدهون.

الأحماض النووية: ينتج الامتصاص عن القواعد النتروجينية (أدنين ، جوانين ، سيتوسين، يوراسيل ، ثايمين).

ويعتبر التحليل الطيفي لامتصاص الأشعة تحت الحمراء من الطرق الأساسية في التعرف على المركبات العضوية والحيوية ، كما يمكن استخدامه في الكشف عن التغيرات التي تحدث للجزيئات نتيجة لتفاعلها وتكوين جزيئات جديدة.

ويوضح جدول (٢-٢) مواضع امتصاص بعض الجزئيات العضوية والحيوية للأشعة فوق البنفسجية.

ويعتبر طيف الامتصاص لأشعة Infra red بصمة مميزة لكل جزيء ، وتتمركز بعض الاهتزازات في رابطة أو مجموعة كيميائية ولا يحدث تداخل بين هذه المجموعات وبقية الجزئ ، وعلى ذلك فان موضع امتصاص هذه المجموعات لا يتغير من مركب الى آخر مثال ذلك الامتصاصات الخاصة بمجموعة :

CH_3, CH_2, CH, -OH, -NH, -SH, -C=O

جدول (٢-٢)مواضع امتصاص بعض المجاميع الفعالة للأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء

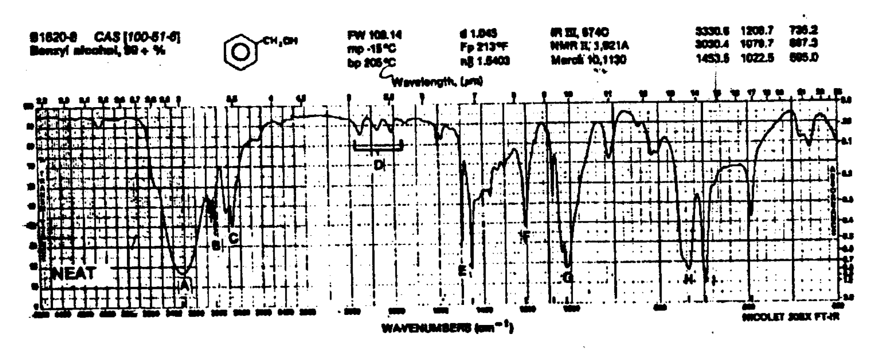
Compound	Group	UV Absorption Band		IR Absorption
		λ_{max} (mμ)	ε_{max}	ν_{max} cm^{-1}
Alkene	C=C	190	8,000	1690 – 1600
Alkyne	C≡C	175 - 180	6,000	3300
Ketone	C=O	195 270 - 300	1000 18 – 30	1700 – 1750
Aldehyde	-COH	210 280 - 300	10,000 8 – 11	1700 – 1750
Carboxyl	-COOH	200 - 210	50 – 70	3520
Amido	$-NH_2$	195	2800	3400 – 3180
Nitro	$-NO_2$	210	5,000	1850 – 1555
Ntrile	-C≡N	< 160		2250 – 2225
Sulfoxide	-S=O	210	1500	2600 – 2550
Sulfone	O=S=O	<180	-	2600 – 2550
Alcohol -OH	R-OH	177	200	3650 – 3584
Phenol -OH	Ar-OH	211 270	6200 1450	3650 – 3584
Aromatic structure	Phenyl	256	200	909 – 650

جدول (٣-٢) مواضع امتصاص بعض الجزيئات العضوية والحيوية للأشعة فوق البنفسجية:

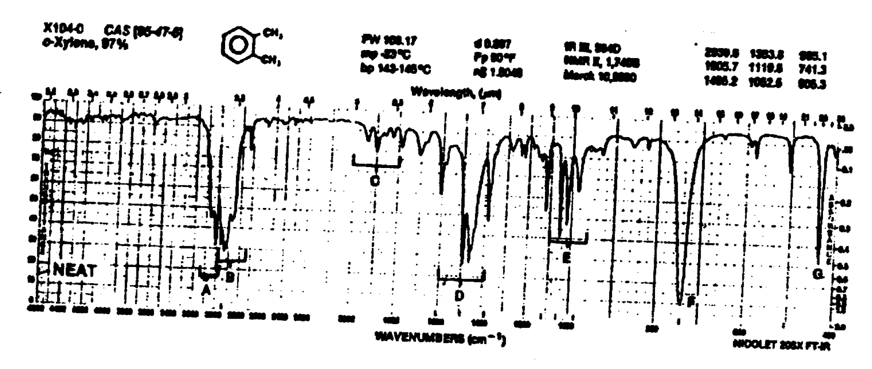
ϵ_{max} (Liter.mole^{-1}.cm^{-1})	λ_{max} (mµ)	الجزيء
5600 47500	280 219	تربتوفان
200 9300 60000	257 206 188	فينايل الانين
5900	211	هستيدين
13400	260.5	أدينين
6600	258	DNA
7400	258	RNA
7900 200	204 256	Benzene
6200 1450	210.5 270	Phenol
8600 1430	230 280	Aniline
7600 240	210 265	Chlorobenzene

وسوف نقوم بعرض التحليلات لبعض المركبات العضوية باستخدم IR

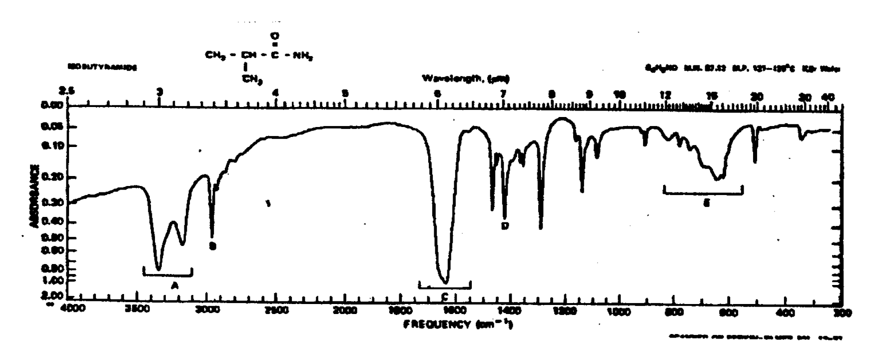
كما هو موضح بالشكل (٣-١٠) لمركب كحول البنزايل وشكل (٣-١١) لمركب الزايلين وشكل (٣-١٢) لمركب أيزوبيوتيريميد وشكل (٣-١٣) لمركب خلات الفينيل وشكل (٣-١٤) لمركب أنيسول وشكل (٣-١٥) لمركب ثلاثى ميثايل بنتانول وشكل (٣-١٦) لمركب تلوينتريل.



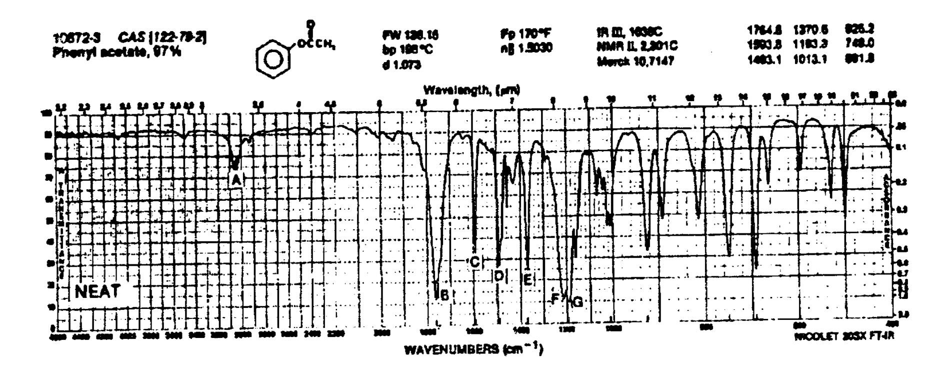
شكل (٣-١٠) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب كحول البنزايل



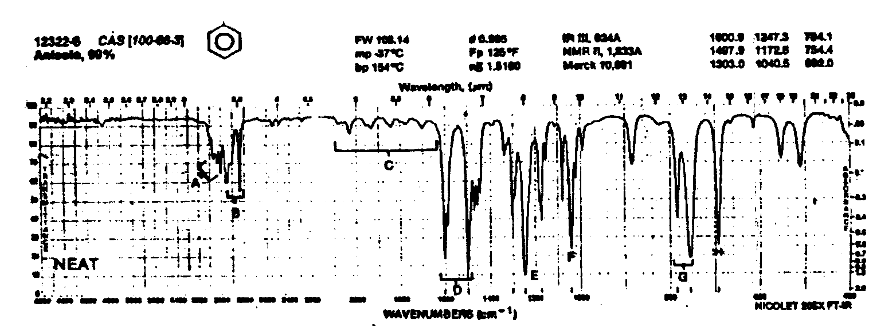
شكل (٢-١١) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب كحول الزايلين



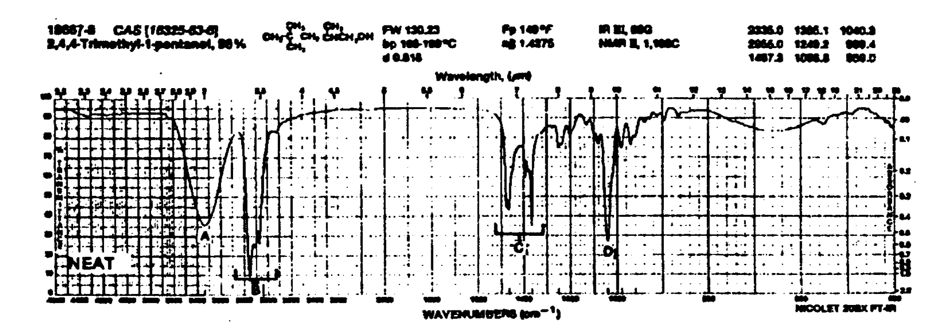
شكل (٢-١٢) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب أيزوبيوتيريميد



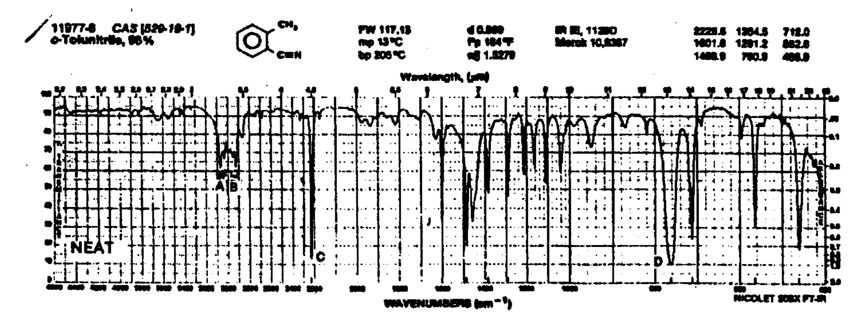
شكل (٣-١٣) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب خلات الفينيل



شكل (٣-١٤) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب أنيسول



شكل (٣-١٠) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب ثلاثى ميثيل بنتانول



شكل (٣-١٦) التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء لمركب تلوينيتريل

ويوضـح جـدول (٣-٤) طيـف إمتصـاص بعـض الكمركبـات أو المجـاميع الفعالـة للأشعة تحت الحمراء

جدول (٣-٤) طيف الامتصاص لبعض المجاميع الكيماوية تحت ظروف مختلفة:

Spectral Region (cm^{-1})	Vibrational Classification	Group & Environment	Absorption Band (cm^{-1})
3704 - 3333	O-H stretching	Alcohols & Phenols	
		a) Free O-H	3650 - 3590
		b) Intermolecularly hydrogen bonded OH (changes on dilution)	
		(1) Single bridge compounds	3550 - 3450
		(2) Polymeric association	3400 - 3200
3333 - 2857	N-H stretching	Amines:	
		a) Primary , free	~ 3500
		b) Secondary, free	3500 - 3310
	C - H streching	Alkyne (CH≡CH)	~ 3300
		Alkene ($CH_2 = CH_2$)	3095 - 3010
		Alkane ($-CH_3$, $-CH_2$)	2962 - 2853
3333 - 2857	N - H stretching	Amine salts	3130 -3030
2857 - 2500	C - H streching	Aldehydes	2900 - 2820
			2775 - 2700
	O - H streching	Carboxylic acids bonded.	2700 - 2500
	S - H streching	Sulfur compounds	2600 - 2550
2500 - 2222	C≡C streching	Alkyne-disubstituted	2260 - 2190
	C≡N streching	Isocyanates	2275 - 2215
2222 - 2000	C≡N streching	Isocyanides	2220 - 2070
2222 - 2000	N=C=N- stretch	Diimides	2155 - 2130
2000 - 1818	C=O streching	Anhydrides:	

		a) saturated 5-membered ring	1870 - 1820 1800 - 1750 1850 - 1800
		b) α, β-Unsaturated 5 mem.ring	1830 - 1780 1850 - 1800 1790 - 1740
		c) saturated acyclic	1830 - 1780 1770 - 1720
		d) α, β-Unsat. & aryl, acylic	
1818 - 1667	C=O stretching	Acyl halides:	
		a) acyl bromides	~ 1810
		b) acyl chlorides	~ 1795
		c) acyl fluorides	~ 1850
		d) α, β-Unsaturated and aryl	1780 - 1750 1750 - 1720
	C=O stretching	Esters:	
		a) Saturated, cyclic:	
		(1): β - lactones	~ 1820
		(2): γ - lactones	1780 - 1760
		(3): δ - lactones	1750 - 1735
		b) Saturated, acylic	1750 - 1735
		c) Unsaturated:	
		(1): vinyl ester type	1800 - 1770
		(2):α,β-unsaturated & aryl	1730 - 1717 1780 - 1740
		d) Carbonates	

الفصل الرابع

جهاز الرنين النووي المغناطيس

Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

مقدمة:

يستخدم جهاز الرنين النووى المغناطيسى فى التعرف على تركيب الجزئيات عن طريق إمتصاصها الأشعة الراديو، ويوضح شكل (٤-١) صورة جهاز الرنين النووى المغناطيسى.

ينتج عن المغزلية spining motion لأنوية بعض العناصر حول محورها عزم مغناطيسي (M) magnetic moment وعند وضع هذه الأنوية بين قطبي مجال مغناطيسى خارجى فإنه يحدث تأثير على مستويات الطاقة الخاصة بالحركة المغزلية spin energy level لهذه الأنوية مما يؤدي الى إنفصال splitting طاقة الحركة المغزلية إلى مستويين طاقيين مختلفين على أساس اتجاه العزم المغناطيسي الناشئ عن الحركة المغزلية:

١- مستوى طاقي منخفض Low energy level :

وهنا يكون العزم المغناطيسى فى إتجاه المجال المغناطيسى الخارجي.

٢- مستوى طاقي مرتفع High energy level :

وهنا يكون العزم المغناطيسى فى إتجاه مضاد للمجال المغناطيسى الخارجى.

ويمكن زيادة الفرق فى الطاقة بين هذين المستويين بزيادة شدة المجال المغناطيسى الخارجى ويتضح من الشكل (٤-٢).

ولذلك توضع هذه الأنوية فى مجال مغناطيسى خارجى (بين قطبي مغناطيس كبير) ويسلط عليها أشعة الراديو Radiowave فتمتص هذه الأنوية طاقة أشعة الراديو وتنتقل إلى مستوى الطاقة الأعلى وينتج عن ذلك تغير فى إتجاه الحركة المغزلية للنواة ، ثم ترجع الأنوية من المستوى العالي في الطاقة الى المستوى المنخفض مرة أخرى وهكذا ويطلق على هذه الظاهرة الرنين النووي المغناطيسي nuclear magnetic resonance (NMR) وإمتصاص الطاقة يمكن الكشف عنه وتكبيره كطيف خطى ويطلق عليه إشارة الرنين

resonance signal ويظهر كل جزئ عدة إمتصاصات تعبر عن الظروف الأليكترونية المحيطة بكل نواة والتى تحدد نوع الرابطة والذرات الأخرى المرتبطة بهذه النواة.

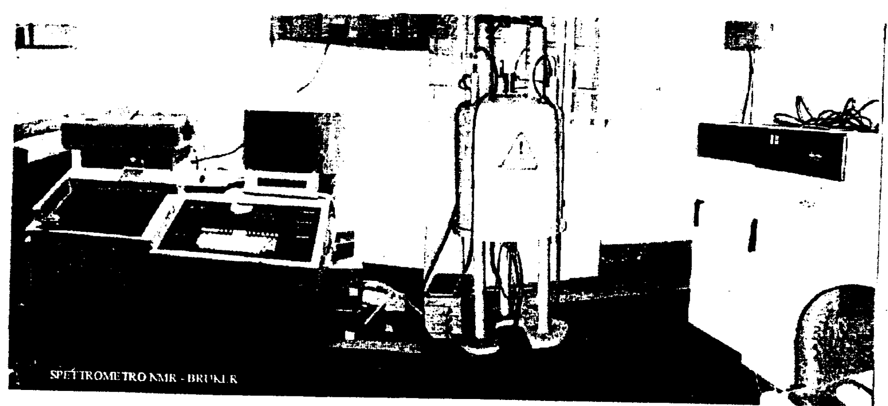
ويعبر عن طيف الأشعة الكهرومغناطيسية فى منطقة أشعة الراديو بالتردد بوحدات هرتز ميجاهيرتز $(1MHz = 10^6 Hz)$ Hertz (Hz), MHz,

ويوجد عدد محدود من العناصر التى تحتوى على أنوية ذات خواص مغناطيسية قوية تتيح التطبيق العملى لإمكانية تحليلها بواسطة NMR ومن هذه العناصر الهيدروجين والبورون والكربون والفلور والفوسفور ^{1}H, ^{11}B, ^{13}C, ^{19}F, ^{31}P وهذه العناصر تتميز أيضا بأن ذراتها تحتوى على عدد فردى odd number من البروتونات أو النيترونات وأن لها رقم كوانتم مغزلى (Spin Quantum Number) يساوى ½ وعلى ذلك يكون رقم الكوانتم المغناطيسى (Magnetic Quantum Number) لها يساوى ±½

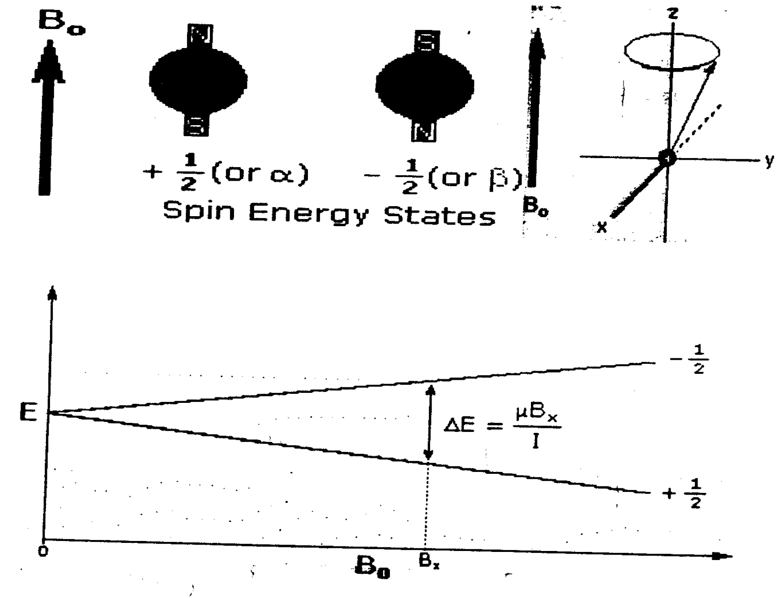
ويكون عدد الأتجاهات المحتملة للعزم المغناطيسى =٢

وطاقة المستويات الناتجة عن الإتجاهات المختلفة للعزم المغناطيسى يمكن حسابها من المعادلة التالية

$$E= -m\mu B_o/I$$



شكل (٤-١) جهاز الرنين النووى المغناطيسى



شكل (٤-٢) مستويات الطاقة الخاصة بالحركة المغزلية فى جهاز الرنين النووى المغناطيسى

حيث E هى طاقة المستوى، B_o شدة المجال المغناطيسى الخارجى،

m رقم الكوانتم المغناطيسى، I رقم الكوانتم المغزلى ، μ العزم المغناطيسى.

وعلى ذلك فإن طاقة المستويات فى حالة الأنوية التى لها كوانتم مغزلى يساوى ½ تكون :

$E_1 = -\frac{1}{2}\mu B_o / \frac{1}{2}$ where: $m = +\frac{1}{2}$ • $E = -\mu B_o$

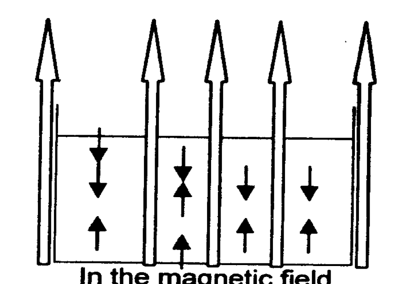
$E_2 = \frac{1}{2}\mu B_o / \frac{1}{2}$ where: $m = -\frac{1}{2}$ • $E = +\mu B_o$

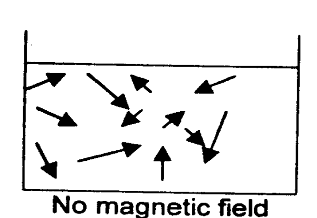
$$\Delta E = E_2 - E_1$$
$$= +\mu B_o - (-\mu B_o)$$
$$= +\mu B_o + \mu B_o$$
$$= 2\mu B_o$$

جدول (٤-١): الرقم المغزلي لبعض الذرات

Number of protons	Number of neutrons	Spin number	Examples
Even	Even	0	^{16}O, ^{32}S ^{12}C,
Odd	Even	½	^{1}H, ^{31}P, ^{15}N, ^{19}F
Even	Odd	½	^{13}C
Odd	Odd	1	^{1}H, ^{15}N
Odd	Even	3/2	^{11}B, ^{79}Br
Even	Odd	5/2	^{127}I

في حالة الأنوية التي يكون فيها عدد البروتونات والنيترونات زوجي يكون لها حركة مغزلية في اتجاه واحد وبذلك يكون رقم الكوانتم المغزلي لها يساوي صفرا ، اما الأنوية التي يكون فيها عدد البروتونات أو النيترونات فردي يكون لها حركة مغزلية في اتجاهين ويكون لها رقم كوانتم مغزلي يساوي ½ ، وفى غياب المجال المغناطيسى الخارجى فإن العزم المغناطيسى لهذه الأنوية يمكن أن يوجد فى اى إتجاه ، وتكون طاقة هذه الأتجاهات متساوية ويكون عدد الأنوية (البروتونات) الموجودة فى هذه المستويات متساوية أيضاً ولكن فى وجود المجال المغناطيسى الخارجى فان طاقة الحركة المغزلية تنفصل الى مستويين أحدهما عالي والآخر منخفض في الطاقة كما سبق وشرحنا ، ولذلك نجد أن هذه الأنوية تحت هذه الظروف توجه نفسها بحيث يكون إتجاه العزم المغناطيسى لها فى إتجاه المجال المغناطيسى الخارجى لتكون عند مستوى طاقي منخفض وتظل بعض الأنوية عكس اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وتتناوب هذه الأنوية بحيث تغير اتجاهها لتصبح كل منها مرة في اتجاه المجال ومرة عكس اتجاه المجال ، ودائما يكون المستوى المنخفض فى الطاقة ($m=½$) مشغول بعدد أكبر من البروتونات عن المستوى المرتفع فى الطاقة ($m= -½$) لأن كل نظام يميل الى التواجد في المستوى الطاقي المنخفض (شكل ٤-٣).





شكل (٤-٣) ترتيب الأنوية عند وضعها فى المجال المغناطيسى فى جهاز NMR

وقيمة العزم المغناطيسى تعتبر قيمة ثابتة بالنسبة للنوع الواحد من الأنوية وقد وجد أنه عند وضع تلك الأنوية ذات الخواص المغناطيسية فى مجال مغناطيسي خارجى شدته ١٤,٠٠٠ جاوس على درجة حرارة الغرفة (300 K) يكون ١,٠٠٠٠١٠ نواة فى مستوى الطاقة المنخفض بينما نجد ١,٠٠٠٠٠٠ نواة فقط فى مستوى الطاقة العالى وبذلك يكون الفرق فى عدد الأنوية فى كلا المستويين هو عشرة أنوية وهى التى تكون مسئولة عن عملية الأمتصاص للطاقة فى الرنين النووى المغناطيسى.

بزيادة شدة المجال المغناطيسى يزداد الفرق فى الطاقة بين المستويين وبالتالى يؤدى إلى زيادة عدد الأنوية الموجودة فى مستوى الطاقة المنخفض بالنسبة لعدد الأنوية الموجودة فى مستوى الطاقة المرتفع.

وتختلف اجهزة NMR عن بعضها فى شدة المجال المغناطيسى المستخدم وبزيادة شدة المجال المغناطيسى نحصل على فصل جيد للأمتصاصات الناتجة من الأنوية المختلفة فى الجزيئات.

عملية الاسترخاء Relaxation process

عندما يحدث امتصاص لطاقة موجات أشعة الراديو تنتقل الأنوية من مستوى الطاقة المنخفض إلى مستوى الطاقة الأعلى وينتج عن ذلك إنحراف النظام عن الإتزان الحرارى وإذا لم يتم رجوع الأنوية من المستوى العالى فى الطاقة إلى المستوى المنخفض مرة اخرى فإن عملية الإمتصاص لا يمكن أن تستمر وهذا ما يطلق عليه التشبع saturation

ويكون الأمتصاص فى هذه الحالة صغير جداً وقد لا يمكن الكشف عنه عملياً، ولكن الذى يحدث فى الأنظمة الكيميائية أن الطاقة الممتصة عادة ما تفقد بسرعة وبذلك تستمر عملية الأمتصاص ويمكن الكشف عنها ، وعملية فقد الطاقة المكتسبة فى هذه الحالة تسمى عملية الإسترخاء relaxation أما الوقت الذي يستغرق لفقد هذه الطاقة يسمى relaxation time.

وتتم عملية الاسترخاء بطريقتين :

أولا: الأسترخاء عن طريق فقد الطاقة من النواة إلى بقية الجزئ وهى ما تسمى بـ Longitudinal or spin-lattice relaxation وكفاءة هذه الطريقة يعبر عنها بالزمن الذى يستغرق فى عملية نقل الطاقة من النواة وهى فى مستوى الطاقة العالى إلى مستوى الطاقة المنخفض وكلما كان هذا الزمن صغير يدل على كفاءة نقل الطاقة وينتج عن ذلك إتساع منحنى الإمتصاص broadening ، وتحدث هذه العملية فى حالة السوائل والمحاليل والغازات.

ثانيا: الإسترخاء عن طريق تأثير الحركات المغزلية للأنوية المجاورة Transverse or spin- spin relaxation وتحدث هذه العملية بإنتقال الطاقة من النواة وهى فى مستوى الطاقة العالى إلى نواة أخرى مجاورة توجد فى مستوى الطاقة المنخفض ، وهذه الطريقة ذات أهمية فى حالة المواد الصلبة.

طيف الرنين النووي المغناطيسي NMR spectrum

يتم تسجيل طيف امتصاص الرنين النووى المغناطيسى لأنوية نوع واحد من العناصر التى لها خواص مغناطيسية داخل نفس الجزئ الواحد وذلك لأن كل نوع من أنوية ذرات العناصر يمتص طاقة الأشعة على تردد مختلف ، كما أن جهاز NMR يتميز بقدرته على تمييز نوع واحد من أنوية العناصر بالنسبة للظروف المحيطة بهذه الأنوية فى الجزئ.

نواة ذرة الهيدروجين (البروتون):

عند حدوث إمتصاص واحد لأنوية ذرات الهيدروجين فإنه لن يتحصل على أى معلومات مفيدة بالنسبة لتركيب الجزيئات ولكن وجود أنوية ذرات الهيدروجين فى الجزئ يؤدى إلى وجود هذه الأنوية فى ظروف أليكترونية مختلفة بالنسبة لتوزيع الأليكترونات فى الرابطة بين نواة الهيدروجين والذرة الأخرى. وهذا التباين فى التوزيع

الأليكترونى حول أنوية الهيدروجين فى الجزئ يؤدى إلى إمتصاص هذه الأنوية على ترددات مختلفة وعلى ذلك فإن عدد الإمتصاصات يعبر عن الأنواع المختلفة من ذرات الهيدروجين فى الجزئ.

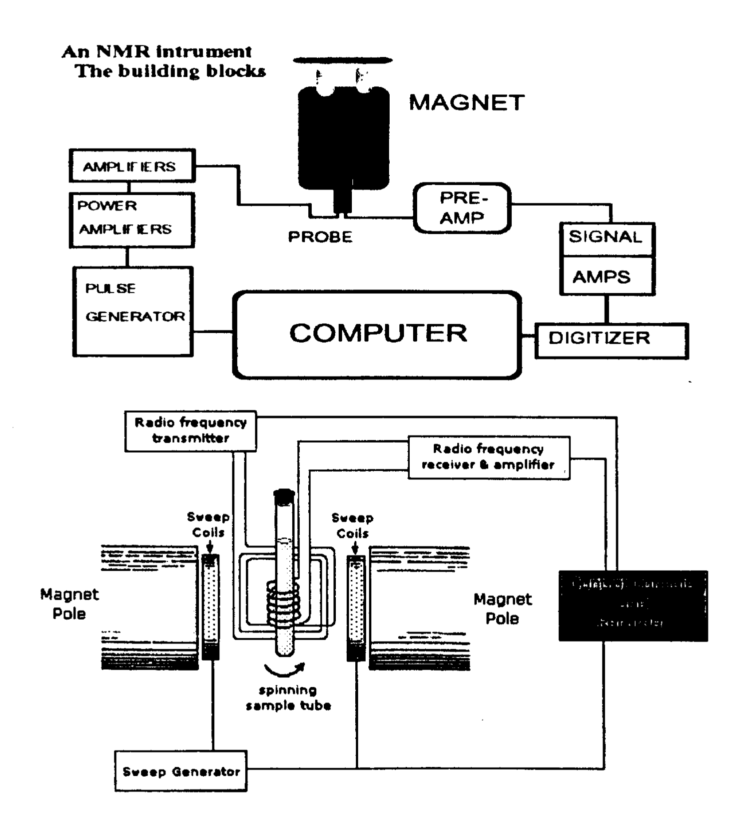
فنجد ان الهيدروجين فى كُلا من $-CH_3$ & $-CH_2$ & OH - يختلف من ناحية الظروف الأليكترونية المحيطة، وبذلك فإنه يحدث إمتصاص لكل نوع من البروتونات على تردد مختلف، كما أن كثافة الإمتصاص فى كل مجموعة يتناسب مع عدد البروتونات فى هذه المجموعة وبذلك نحصل على معلومات مفيدة بالنسبة للتركيب الجزيئى.

وتختلف أجهزة الرنين النووى المغناطيسى عن أجهزة التحليل الطيفى الأخرى إلى حد ما ويعتمد وجود مستويات الطاقة المغناطيسية التى تحدث بينها عملية الإنتقال على وجود مجال مغناطيسى خارجى قوى ، بينما فى طرق التحليل الطيفى الأخرى يعتبر وجود مستويات الطاقة الخاصة بها (مستويات الطاقة الأليكترونية والإهتزازية) خاصية ذاتية قائمة فى الجزيئات، كما أن الأشعة الكهرومغناطيسية EMR المستخدمة فى أجهزة NMR ذات طول موجى كبير جداً radiowave وعلى ذلك فإن الوحدات المستخدمة فى إنتاج هذه الأشعة والكشف عنها تختلف عن أجهزة التحليل الطيفى الأخرى. فى أجهزة التحليل الطيفى السابق ذكرها UV – VL & IR يمكن إحداث إمتصاص بتغيير طاقة الأشعة (الطول الموجى أو التردد) ويحدث الإمتصاص عند الطول الموجى الذى تكون فيه طاقة الأشعة مساوياً للفرق فى الطاقة بين مستويات الطاقة، ولكن وجد أنه من الصعب التحكم فى تغيير الطول الموجى فى منطقة radiowave المستخدمة فى أجهزة NMR بدقة كافية وعلى ذلك فإن أجهزة NMR تستخدم حزمة ثابتة من أشعة الراديو بينما يغير من شدة المجال المغناطيسى وبذلك يحدث الإمتصاص للشعاع عندما تتساوى مع طاقة الأشعة.

وحيث أن كل بروتون (نواة ذرة الهيدروجين) فى الجزىء له طاقة خاصة به فتحدث الأمتصاصات للبروتونات المختلفة فى الجزىء وذلك بتغيير شدة المجال المغناطيسى فى وجود حزمة ثابتة ذات تردد مناسب من أشعة الراديو.

مكونات جهاز الرنين النووي المغناطيسي:

وتتكون أجهزة الرنين النووي المغناطيسي من خمسة أجزاء رئيسية كما هو موضح فى شكل (٤-٤):



شكل (٤-٤) مكونات جهاز الرنين النووى المغناطيسى

(١) المغناطيس Magnet

يستخدم المغناطيس لفصل مستويات الطاقة المغناطيسية للأنوية المختلفة ، ويمكن إستخدام مغناطيس دائم permanent mangnet أو مغناطيس كهربي electromangnet حيث توضع العينة بين قطبي المغناطيس الذى يشترط فيه أن يعطى مجالاً مغناطيسياً متجانسا Homogeneous field وان يكون ثابتاً بدرجة مناسبة.

(٢) وحدة تغيير شدة المجال Magnetic Field Sweep Generator

يتم تغيير شدة المجال المغناطيسي بواسطة ملف coil فى مواجهة قطبى المغناطيس وهذا الملف متصل بمولد كهربى متغير sweep generator فعند تغيير شدة التيار الكهربى المستمر DC فى الملف يتغير شدة المجال المغناطيسى فى منطقة العينة فى حدود طفيفة وهذا التغيير يكون فى حدود ١٠٠٠ هرتز فى أجهزة NMR الـ $60\ MH_z$ instrument

(٣) مصدر إنتاج موجات أشعة الراديو Radiofrequency Transmitter

تنتج أشعة الراديو من radiofrequency oscillator متذبذب أشعة الراديو حيث تغذى فى سلك مزدوج coil ملفوف حول العينة والذى يسمى ملف الأرسال transmitter coil ويكون محوره عمودياً على أتجاه المجال المغناطيسي ، وتختار وحدة إنتاج الأشعة بناء على تردد الأشعة المطلوب والتى تتوقف بالتالى على شدة المجال المغناطيسى المستخدم فى الجهاز، فى حالة إستخدام مغناطيسى ١٤ ك جاوس يكون تردد الأشعة المطلوب $60\ MH_z$

(٤) وحدة وضع العينة Sample Holder and Probe

تستخدم أنابيب من الزجاج قطرها الداخلى 5mm لوضع العينات وهذه الأنبوبة تكون متصلة بتربين turbine يدار بالهواء ، يمكن بواسطته دوران الأنبوبة حول محورها الرأسى عدة مئات من الدورات فى الدقيقة x cycle / min ، وهذا الدوران يقلل من التأثير الناتج عن عدم التجانس فى المجال المغناطيسى الخارجي.

(٥) وحدة الكشاف Radiofrequency Receiver or Detector

يمكن الكشف عن إمتصاص أشعة الراديو بواسطة ملف آخر من السلك يحيط بالعينة أيضاً ويكون عمودياً على كل من ملف الإرسال والمجال المغناطيسي ويطلق عليه

ملف الإستقبال receiver coil ويتولد فيه فيض كهربى ينتقل إلى المستقبل receiver حيث يتم تكبيره وتسجيله.

وحدة تكامل اليكترونية Electronic Integrator

تحتوى جميع اجهزة الرنين النووي المغناطيسي على وحدة لقياس المساحة تحت كل منحنى إمتصاص وتسمى وحدة تكامل اليكترونية Electronic Integrator وهذه المساحة تتناسب طردياً مع عدد البروتونات المسئولة عن هذا الأمتصاص.

وكما ذكرنا سابقا تختلف أجهزة NMR عن بعضها فى شدة المجال المستخدم وبالتالى فى تردد اشعة الراديو المستخدمة ، وتميز الأجهزة المختلفة بناء على تردد الأشعة المستخدمة فى الجهاز.

جهاز 60 MH$_z$ NMR : هو الجهاز الذى يستخدم أشعة ترددها 60 MH$_z$ وللحصول على هذا التردد يستخدم شدة مجال مغناطيسى حوالى ١٤ ك. جاوس وهذا المجال المغناطيسى يعمل على فصل مستويات الطاقة بحيث تكون فى مدى طاقة أشعة الراديو المستخدمة فى الجهاز.

ومن الأجهزة الأخرى المستخدمة: 90, 100, 220, 300, 360 and 500 MH$_z$ وبزيادة شدة المجال نحصل على هذه الترددات العالية لأشعة الراديو.

وفى بعض الأجهزة نجد انه يثبت شدة المجال Fixed Magnetic Field مثلاً ١٤ ك جاوس ثم يغير فى التردد Vary the Frequency حتى يعمل Location للرنين Resonance وهذه هى الأكثر شيوعا حيث ان كل نواة مثلا الهيدروجين ^{1}H أو الفلور ^{19}F او الفوسفور ^{31}P او الكربون ^{13}C لها تأرجح Resonance عند تردد مختلف.

اما في الأجهزة الحديثة 300 MH$_z$ و التي تتطلب مجال قوي جدا يتم غمر مغناطيس قوي في حمام من الهليوم المسال liquid helium ويطلق عليه superconducting magnet لأن له مجال قوي high field بمعنى أن ملف المغناطيس هنا يوصل التيار الكهربي بالكامل بحيث تكون المقاومة تساوي صفرا.

ولكي يوصل ملف المغناطيس magnet coil التيار الكهربي بكفاءة عالية يجب ان يحفظ على درجة حرارة منخفضة جدا تصل الى درجة برودة الهليوم المسال ، أما اذا ارتفعت درجة حرارة ملف المغناطيس فان المقاومة تزداد وينطلق حرارة ويبدأ الهليوم في الغليان (درجة غليان الهليوم 4.3 درجة مطلقة) ويحدث اعاقة quenching للمجال المغناطيسي.

ويطلق على هذه الأجهزة الرنين النووى المزود بمحول فورييه والمصور

- Fourier transform nuclear magnetic resonance (FT NMR spectrometer).
- Magnetic resonance imaging (MRI) machine.

تحضير العينات Sample handling

يمكن عمل H^1-nmr للعينات السائلة أو الصلبة بعد عمل محلول منها فى مذيب مناسب حيث يذاب وزنة من العينة فى حدود 30 mg فى المذيب ويشترط ألا يحتوى المذيب على هيدروجين فى تركيبه.

وفى حالة المركبات القطبية والتي تتطلب مذيب قطبى مثل الماء أو الايثانول يجب استخدام مذيب يحتوى على نظير الهيدروجين وهو الديويتريوم حيث أنه ليس له إمتصاص فى الـ H^1-nmr وتسمى مثل هذه المذيبات Deuterated solvents وهي غالية الثمن ومنها:

Deuterated water (D_2O)
Deuterated Ethanol C_2D_5OD
Deuterated chloroform $CDCl_3$
Deuterated benzene C_6D_6

ولتحضير العينة للتحليل بواسطة جهاز الرنين النووي المغناطيسي نحتاج حوالي ٢٠-٣٠ ملليجرام من المادة الصلبة أو ٥٠ ميكروليتر من العينة السائلة وتذاب العينة الصلبة أو تخفف العينة السائلة بحوالى ٠,٥ مل من المذيب المناسب ، ثم توضع العينة فى انبوبة التحليل (5mm i.d. glass tube) ، وإذا كان هناك عكارة يجب ترشيح العينة حتى تكون شفافة ، ويجب أن يكون إرتفاع المحلول فى الأنبوبة حوالي ٣-٧ سم ، ويضاف إلى العينة مادة قياسية reference substance وهى غالبا عبارة عن مادة رابع ميثيل

سيلان Tetra methyl silan ويطلق عليها (TMS) ثم تغطى الأنبوبة بغطاء بلاستيك ثم توضع الأنبوبة داخل الـ turbine فى المكان المخصص لها وهو بين قطبى المغناطيس ويدفع تيار من الهواء من خلال مضخة pump فتدور الأنبوبة بسرعة عالية ثم نعمل location لمادة TMS عند الصفر ثم نعمل scan للعينة على chart خاصة برسم العينات.

الانتقال الكيميائي Nuclear Spin & Chemical Shift

يرتبط الهيدروجين في المركبات العضوية بعناصر أخرى عن طريق روابط كيميائية مما يجعل أنوية ذرات الهيدروجين فى ظروف أليكترونية مختلفة عن بعضها على حسب نوع الروابط والعناصر المرتبطة بها، بالاضافة إلى التوزيع الأليكترونى فى الجزىء ككل مما يؤدي الى حدوث إمتصاص للأشعة بواسطة هذه البروتونات على ترددات مختلفة، وهذا الأختلاف فى موضع الإمتصاصات الناتج عن وجود البروتونات فى ظروف أليكترونية مختلفة يطلق عليه الإنتقال الكيميائى (δ) chemical shift

وعلى ذلك فإن قيمة الأنتقال الكيميائى δ لأى إمتصاص فى الـ nmr تحدد نوع المجموعة الكيميائية فى الجزىء والتى تحتوى على البروتون المسئول عن هذا الإمتصاص مثل :

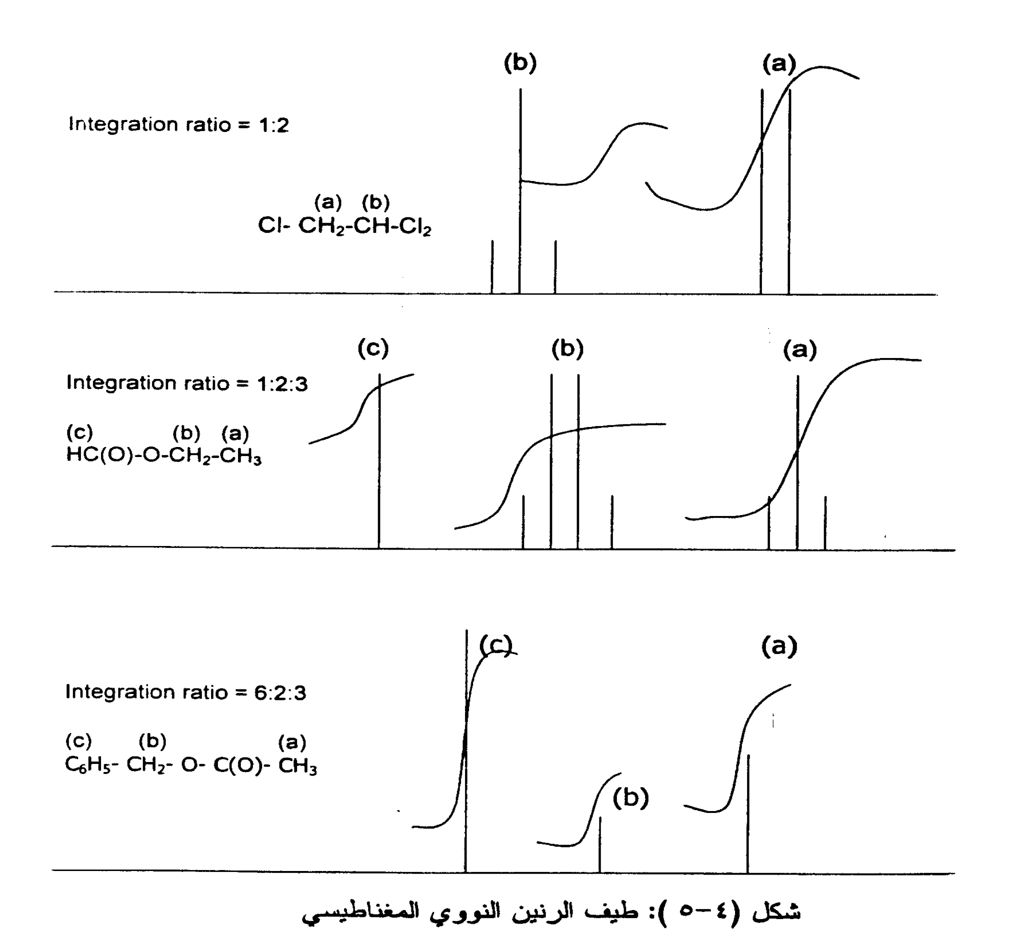
NH, OH, CH, CH_2, CH_3, SH

ولمعرفة عدد البروتونات فى كل مجموعة كيميائية يتم حساب المساحة تحت كل إمتصاص peak area وذلك بأستخدام وحدة تكامل أليكترونية electronic integrator وعادة تتناسب المساحة تحت كل منحنى إمتصاص مع عدد البروتونات التى ينتج عنها هذا الأمتصاص.

ولكى نشرح طيف الرنين المغناطيسى للبروتون وخصائصه الأساسية دعنا نشاهد nmr spectrum لثلاثة مركبات هى:

١- ثلاثى كلورو إيثان	$Cl\ CH_2\text{-}\ CHCl_2$	1, 1, 2- Trichloroethane
٢- فورمات الايثايل	$CH_3\text{-}\ CH_2\text{-}\ O\text{-}\ CH$	Ethyl formate
٣- خلات البنزايل	$C_6H_5\text{-}\ CH_2\text{-}\ O\text{-}\ C(O)\text{-}\ CH_3$	Benzyl acetate

ويوضح شكل (٤-٥) الرنين النووى لهذه المركبات



شكل (٤-٥): طيف الرنين النووي المغناطيسي

ويمكننا ملاحظة ما يلى من طيف امتصاص اشعة موجات الراديو nmr spectra للمركبات السابقة:

اولا: توجد عدة إمتصاصات للبروتونات (أنوية ذرات الهيدروجين) المختلفة فى كل جزىء ويرجع ذلك إلى وجود هذه البروتونات فى ظروف كيميائية مختلفة داخل الجزىء. وأنه فى حالة مركب 1, 1, 2- trichloroethane يوجد إمتصاصين فقط لتعبر عن عدد البروتونات المختلفة فى الجزىء، بينما فى حالة كل من ethyl formate ، benzyl acetate يوجد ثلاثة إمتصاصات، كما نلاحظ أن هذه الأمتصاصات منفصلة عن بعضها بما يسمى الإنتقال الكيميائى chemical shift

ثانيا: المساحة تحت كل منحنى إمتصاص تكون متناسبة مع عدد البروتونات التى ينتج عنها هذا الأمتصاص حيث نجدها ١: ٢ فى المركب الأول إلى ١: ٢: ٣ فى المركب الثانى بينما فى المركب الثالث نجدها ٦: ٢: ٣ وهذه النسب تشرح لنا نسبة توزيع ذرات الهيدروجين إلى بعضها فى الجزىء.

ثالثا: نلاحظ أن بعض هذه الإمتصاصات بسيطة أى إمتصاص فردى singlet والبعض الآخر إمتصاصات ليست بسيطة فنجدها تنقسم داخليا إلى إمتصاصين doublet أو ثلاثة إمتصاصات triplet أو اربعة إمتصاصات quartet وهذا الإنقسام ينتج عن التأثير المتبادل بين العزم المغناطيسى للأنوية المتجاورة spin-spin coupling وأن الفرق بين طاقة هذه الإمتصاصات المنقسمة داخليا بوحدات التردد يطلق عليها ثابت الإزدواج coupling constant (J) وعند إستخدام مجال مغناطيسى قوته ١٤ ك جاوس يحدث إمتصاص للبروتون الحر للأشعة التى ترددها 60 MH_z، ولكن إمتصاص البروتونات الأخرى المختلفة في الجزيء يحدث عند ترددات مختلفة للأشعة.

ويحدث الأنتقال الكيميائى أساسا (أى إمتصاص البروتونات للأشعة على تردد مختلف) نتيجة لتأثير الأليكترونات الموجودة فى الرابطة X-H (حيث X ذرة الكربون أو أى ذرة اخرى) فالمجال المغناطيسى الخارجى B يحدث دوران للسحابة الأليكترونية حول النواة، وينشأ عن حركة الأليكترون تيار مستحث induced current وهو ما ينتج عنه عزم مغناطيسى مستحث induced magnetic moment عند النواة فى إتجاه مضاد لإتجاه المجال المغناطيسى الخارجى وهذا يؤدى إلى خفض شدة المجال الخارجى عند النواة.

ويمكن حساب الإنخفاض فى شدة المجال المغناطيسى أى حساب شدة المجال المغناطيسى عند النواة من المعادلة:

$$B_{local} = B_o - \sigma B_o$$

حيث B_{local} شدة المجال المغناطيسى المؤثر عند النواة.

B_o شدة المجال المغناطيسى الخارجى.

σ ثابت يسمى ثابت التغليف shielding constant

σB_o يعبر عن شدة المجال المغناطيسى المستحث الناتج عن دوران الأليكترونات.

ويتوقف ثابت التغليف على الكثافة الأليكترونية حول النواة والذى يتحدد على حسب المجاميع المجاورة للبروتون هل هى دافعة للأليكترونات فتزيد من الكثافة الأليكترونية حول النواة أم هى مجموعة ساحبة للأليكترونات فتقلل من الكثافة الإليكترونية حول النواة وذلك يعكس إختلاف تردد الأشعة الممتصة لأنوية الهيدروجين.

تقدير الإنتقال الكيميائى Measurement of Chemical Shift

حتى يمكن تفادى الحصول على قيم مختلفة للإنتقال الكيميائى δ لمركب واحد بإختلاف اجهزة NMR التى تستخدم مجالات مغناطيسية مختلفة الشدة يتم إستخدام مادة قياسية تحتوى على نوع واحد من الهيدروجين وأعتبار الإمتصاص الناتج عنها نقطة البداية، ثم تحدد مواقع الإمتصاصات الخاصة بالبروتونات فى المادة المراد دراستها بالنسبة لهذه المادة القياسية، واكثر المواد المستخدمة كمادة قياسية هى مادة Tetramethylsilan (TMS) فهى مادة سهلة الذوبان فى المذيبات العضوية كما أن درجة غليانها ٢٧°م وبذلك يمكن التخلص منها بسهولة والحصول على العينة مرة أخرى كما أنها تعطى إمتصاصا حاداً كثيفاً نظراً لوجود ١٢ ذرة هيدروجين متماثلة وغير فعالة كيميائيا chemically equivalent.

وجميع المركبات العضوية وجد أن رنين بروتوناتها resonate يكون عند مجال اقل من TMS ولذلك فإن TMS يظهر عند الصفر ويعتبر هذا المكان الذى تمتص عنده TMS اعلى مجال high field والمجاميع التى تمتص بالقرب من TMS تكون resonate at higher field بينما المجاميع التى تمتص بعيداً عن TMS resonate down field اى تمتص عند مجال منخفض.

A parameter chemical shift (δ) has been defined as:

$$\delta = \gamma_{sample} - \gamma_{TMS} \;/\; \text{Operating frequency in MHz } (\gamma_o)$$

$$= \gamma_{sample} - \gamma_{TMS} \;/\; 60 \text{ MHz}$$

ويعبر عن الأنتقال الكيميائى النسبى كجزء فى المليون ppm ويرمز له بالرمز δ ومعظم المركبات العضوية يكون رنين بروتوناتها المختلفة فى المدى 12 - 1 ppm وقد يستخدم مقياس آخر يسمى تاو (τ) بدلاً من دلتا (δ)

$$\tau = 10 - \delta$$

ولتحديد قيمة الأنتقال الكيماوى تجرى معايرة calibration وذلك بضبط الأمتصاص الناتج عن المادة القياسية وذلك باستخدام تردد معروف. مثال ذلك حدوث إمتصاص جانبى side band على بعد $500H_z$ من الإمتصاص الرئيسى للمادة القياسية.

يستخدم فى اجهزة NMR ورق بيانى chart paper سبق معايرته وذلك لتسجيل طيف الأمتصاص وعلى ذلك يكون المطلوب فى هذه الحالة هو ضبط إمتصاص TMS على صفر إنتقال كيماوى. فعند إجراء القياس لمادة معينة يضاف إليها نقط قليلة من TMS ويضبط الجهاز بحيث يعطى قراءة δ zero أو τ 10 للمادة القياسية، حيث تظهر إمتصاصات البروتونات المختلفة عند قيم مختلفة من δ ، وفى اجهزة $60MH_z$ NMR تكون قيمة الوحدة من δ تساوى $60H_z$ بينما تساوى هذه الوحدة $100H_z$ فى أجهزة $100MH_z$

طيف الامتصاص في جهاز الرنين النووي المغناطيسي:

إذا إحتوى الجزىء على نوع واحد من البروتونات مثل جزيء الميثان CH_4 ، فإن الجزىء فى هذه الحالة يعطى إمتصاصاً واحداً مميزاً لنوع البروتونات الموجودة فى الجزىء، ويرجع ذلك إلى وجود درجة من التماثل فى هذه الجزيئات مما يجعل جميع البروتونات فى الجزىء متكافئة equivelent فالبروتونات التى يحدث لها إمتصاص على نفس التردد (أى لها نفس قيمة الأنتقال الكيماوى) مثل البروتونات فى مجموعة CH_3 ومجموعة CH_2 يطلق عليها بروتونات متكافئة فى الأنتقال الكيميائى chemical shift equivelent أو متكافئة فى ترددها Resonance frequency equ وتكون البروتونات

متكافئة فى الأنتقال الكيميائى (التردد) إذا أمكن لها تبادل مواضعها فى الجزىء نتيجة للدوران أو الإنعكاس بالنسبة لمحور التماثل.

عند عمل nmr لمركب Benzyl acetate $CH_3 - C(O) - O - CH_2 - C_6H_5$

نجد أن له ٣ إمتصاصات وذلك لوجود ثلاثة أنواع من البروتونات أى ثلاثة أنواع غير متكافئة وهنا نجد أن ثلاثة بروتونات فى CH_3- متكافئة ولذلك يكون لها إمتصاص واحد عند نفس قيمة الأنتقال الكيماوى δ_1 وكذلك نجد أن البروتونين فى CH_2- متكافئة ولها إمتصاص واحد عند قيمة إنتقال كيماوى δ_2 واخيراً نجد أن الخمسة بروتونات فى مجموعة الفينيل يكون لها إمتصاص واحد عند قيمة إنتقال كيماوى واحدة وهى δ_3 وتوجد مجموعة من العوامل تؤثر على الانتقال الكيميائي.

العوامل المؤثرة على الأنتقال الكميائي Intramolecualar factors

١-الكثافة الأليكترونية حول البروتون Inductive effect (Electron density)

تؤثر المجاميع أو الذرات المجاورة لذرة الهيدروجين على الانتقال الكيميائي لها ، فالمجموعات الساحبة للأليكترونات electron withdrawal تقلل من الكثافة الأليكترونية حول البروتون اى تعمل تعرية للنواة وهذا ما يسمى deshielding وتزداد بذلك شدة المجال المغناطيسى الخارجى المؤثر عند النواة ، وتمتص الأنوية الأشعة على تردد مرتفع upfield بالنسبة للمادة القياسية، اى تكون قيمة الإنتقال الكيماوى لهذه البروتونات كبيرة بالمقارنة بالبروتونات المرتبطة بذرة أقل فى الكهروسالبية.

فمثلاً معروف أن الفلور يسحب الأليكترونات بدرجة أعلى من الكلور يليه البروم يليه اليود كما هو موضح بجدول (٤-٢):

الجزىء	CH_3Br	CH_3Cl	CH_3F
درجة سحب الأليكترونات	٢,٨	٣	٤
الأنتقال الكيماوى δ	٢,٦	٣	٤,٦

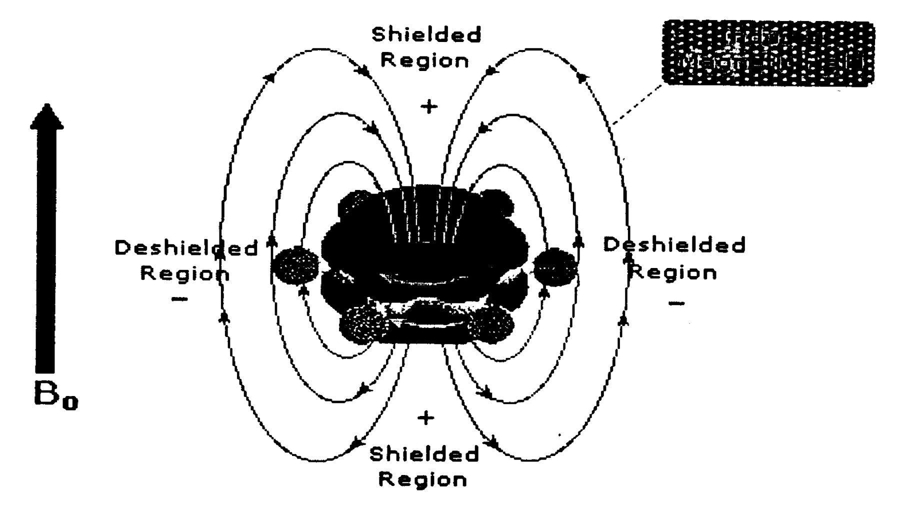
ويوضح جدول (٤-٣) العلاقة بين عدد المجاميع أو الذرات الساحبة للأليكترونات والكثافة الليكترونية حيث وجد أن كلما زادت عدد المجموعات الساحبة للأليكترونات تنخفض الكثافة الألكترونية أكثر.

جدول (٤-٢): العلاقة بين الكثافة الأليكترونية وعدد الذرات الساحبة للأليكترونات والكثافة الأليكترونية

المركب	CH_4	CH_3Br	CH_2Br_2	$CHBr_3$
الكثافة الأليكترونية	٠,٢	٢,٦	٤,٩	٦,٨

وعلى العكس من ذلك نجد أن المجاميع الدافعة للأليكترونات تزيد من الكثافة الأليكترونية حول البروتون أى تعمل تغطية shielding للنواة، ويقل بذلك شدة المجال المغناطيسى الخارجى المؤثر عند النواة وتمتص الأنوية الأشعة على تردد منخفض down field بالنسبة للمادة القياسية أى تكون قيمة الأنتقال الكيماوى لهذه البروتونات صغيرة بالمقارنة بالبروتونات المرتبطة بمجاميع أقل فى الدفع الأليكترونى.

ويوضح شكل (٤-٦) الكثافة الأليكترونية حول البروتون والمنطقة التى يكون فيها تعرية النواة deshielding أو تغطية النواة Shielding.



شكل (٤-٦): الكثافة الأليكترونية حول البروتون والمناطق التي بها تعرية والأخرى التي بها تغطية للبروتون

٢-التأثير الناتج عن التباين فى الخواص المغناطيسية

Magnetic Anisotropy of Chemical Bonds

المركبات التى تحتوى على electron فى روابط باي (زوجية اوثلاثية) تكون هذه الأليكترونات اقل إرتباطاً عن الإليكترونات التى توجد فى رابطة sigma (فردية) ، ويقل الأرتباط بصورة أكبر فى المركبات التى تحتوى على روابط زوجية أو ثلاثية متبادلة conjugated فعند وجود هذه الأليكترونات تحت تأثير المجال المغناطيسى الخارجى تدور هذه الألكترونات محدثة مجالاً مغناطيسياً ثانوياً يؤثر على قيمة المجال المغناطيسى الخارجى عند الأنوية. وقد يكون هذا المجال المغناطيسى الثانوى فى إتجاه المجال المغناطيسى الخارجى مؤدياً إلى زيادة شدة المجال عند النواة أو قد يكون عكس إتجاة المجال المغناطيسى الخارجى مؤدياً إلى خفض شدة المجال عند النواة.

وقد جد ان قيمة الانتقال الكيميائي للبروتون في مجموعة الألدهيد H-C=O هي ٩,٩٧ وهذه القيمة اكبر بكثير مما هو متوقع بناء على السحب الأليكترونى بواسطة ذرة الأكسجين ، ويرجع ذلك الى حركة الأليكترونات فى الرابطة C=O حيث وجد أن مجموعة الكربونيل تعمل تغطية shielding للبروتونات الواقعة فى الفراغ المخروطي cone أعلى واسفل مجموعة الكربونيل ولكنها تعمل تعرية deshielding للبروتونات التى تقع خارج الفراغ المخروطي وهذا ما يسمى بـ anisotroic effect

ويستخدم قيمة الانتقال الكيماوى chemical shift فى التعرف على المجموعات الكيميائية فى الجزىء وعلى ذلك يمكن إستخدام البيانات الخاصة بالأنتقال الكيميائى فى التعرف على المجموعات الكيميائية فى جزىء غير معروف التركيب، فمثلا وجد أن قيمة الانتقال الكيميائى للهيدروجين فى جزىء البنزين δ=7.23 بينما قيمة الأنتقال الكيماوى للهيدروجين فى مجموعة الألدهيد CHO هى δ=9.97 ويظهر الكلوروفورم عند δ=7.25 والأسيتون عند δ=2.09 وفى المركبات الأليفاتية كذلك نلاحظ أن قيمة الأنتقال الكيميائى فى المجموعة C-H يزداد فى الأتجاه $CH>CH_2>CH_3$ وفى الأوليفينات يقع الانتقال الكيماوى للبروتون فى المجموعة CH= فى المدى من δ=4-6.5 أما المركبات العطرية يقع المدى بين δ=7-9

٣- تأثير الروابط الهيدروجينية Effect of hydrogen bonding

تكوين روابط هيدروجينية يؤثرعلى قيمة الانتقال الكيمائى للبروتون حيث يظهر down field بالمقارنة بمكان الأمتصاص قبل تكوين تلك الرابطة ، وينتج كذلك عن تأثير تكوين الروابط الهيدروجينية أن يكون الأمتصاص عريضاً brood peak وقد يكون من الصعب فى بعض الأحيان الكشف عن هذا الأمتصاص.

ويتوقف تكوين الروابط الهيدروجينية على طبيعة المذيب المستخدم ودرجة الحرارة وكذلك على تركيز المركب الكيماوى.

ومن أهم المجاميع التى يكون لبروتونها القابلية العالية لتكوين روابط هيدروجينية هى:

-COOH -NH_2 -NH -OH

وقد وجد على سبيل المثال أن تكوين الروابط الهيدروجينية فى كل من الفينولات والأحماض الكربوكسيلية يجعل الانتقال الكيماوى يظهر عند قيمة اكبر من 10ppm ويمكن كسر الرابطة الهيدروجينية برفع درجة الحرارة أو بعمل تخفيف بواسطة مذيب قطبى، فقد وجد أن مجموعة OH- فى كحول الإيثانول ظهرت upfield عند زيادة درجة الحرارة أو عند تخفيف الإيثانول بواسطة رابع فلوريد الكربون والذى أدى إلى كسر الرابطة الهيدروجينية.

ولذلك نجد أن معظم أجهزة NMR مزودة بوحدة تبريد ووحدة تسخين للعينة تسمح بإجراء القياس على درجات حرارة مختلفة تتراوح بين –١٥٠ : ٢٠٠°م ويستخدم لذلك نتروجين سائل فى عملية التبريد، كما تستخدم وحدة تسخين كهربية.

إزدواج الحركات المغزلية Spin-Spin coupling

مما سبق نجد أن الكثافة الأليكترونية حول البروتون والتوزيع الفراغى لذرات الهيدروجين فى الجزىء هى التى تحدد مواضع الانتقال الكيماوي chemical shift ولكن لماذا نجد بعض الأمتصاصات singlet والبعض الآخر doublet أو triplet وهكذا؟

فى الحقيقة نجد أن بعض الإمتصاصات الرئيسية تنقسم داخليا إلى عدة إمتصاصات وترجع هذه الإنقسامات إلى التأثير المغناطيسى المتبادل بين البروتونات المتجاورة والغير متكافئة أى إلى ما يسمى بالإزدواج المغزلى spin-spin coupling وهذا التأثير المتبادل بين البروتونات المتجاورة يتم خلال الأليكترونات الداخلة فى تركيب الروابط التى تربط بين البروتونات ، ويؤدى هذا التأثير المتبادل إلى إنقسام الإمتصاصات الناتجة من كل نوع من البروتونات إلى عدة إنقسامات ، ويتوقف عدد هذه الإنقسامات على عدد ذرات الهيدروجين المتجاورة كما هو موضح فى شكل (٤-٧).

طيف الرنين النووي المغناطيسي لمركب 1, 1, 2-trichloro ethane

يظهر امتصاصين لهذا المركب ، الامتصاص الأول ثنائي يظهر عند قيمة انتقال كيماوي 3.95 والامتصاص الثاني ثلاثي يظهر عند 5.77 ، أما الامتصاص الضعيف جدا عند 7.28 يرجع الى آثار الكلوروفورم الموجود في مذيب Deuterated chloroform ($CDCl_3$) كما هو موضح فى شكل (٤-٨).

بروتونات (b) المجاورة لذرتين كلور لها رنين عند مجال منخفض بالمقارنة ببروتونات (a) المجاورة لذرة كلور واحدة ولكن لماذا تظهر بروتونات (b) ثلاثية الامتصاص بينما بروتونات (a) ثنائية الامتصاص؟

اذا نظرنا الى بروتونات (a) الاثنين ورمزنا الى البروتون الأول (á) والبروتون الثاني (ã) فان nuclear spins لهما وتأثيرهما على البروتون b يكون على النحو التالي:

١- كلا البروتونين متوازيان مع المجال المغناطيسي أي في نفس الاتجاه Both paralle

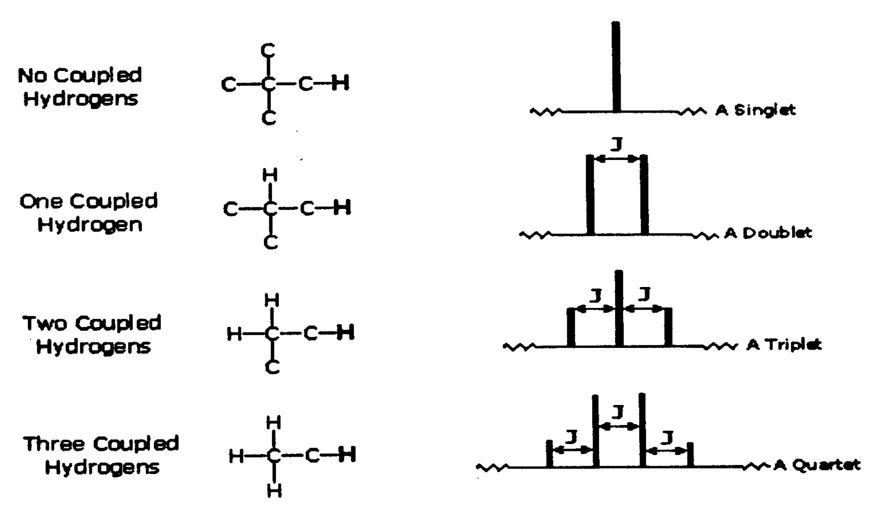
٢- أحدهما يوازي المجال á Parallel والآخر عكس المجال ã antiparallel

٣- أحدهما يوازي المجال ã Parallel والآخر عكس المجال á antiparallel

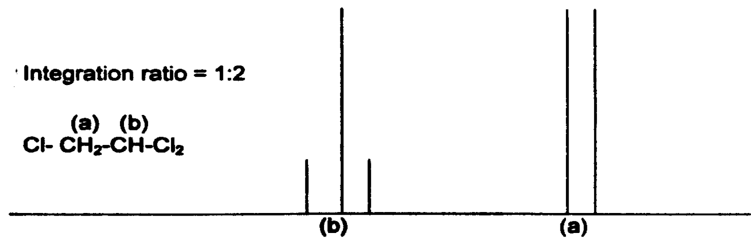
٤- كلا البروتونين غيرمتوازيان مع المجال المغناطيسي أي في عكس الاتجاه Both antiparalle

وبما أن الحالة الثانية والثالثة متشابهة فان بروتون b يظهر ثلاثة امتصاصات بنسبة 1 :2 :1 وثابت الازدواج بينهما حوالي 6 cps

وعلى الجانب الآخر نجد ان بروتوني a & a متكافئين ويؤثران على بروتون b باحتمالين فقط اما أن يكونا مع المجال أو ضد المجال ولذلك نجد ان بروتوني a تظهر امتصاص ثنائي فقط.



شكل (٤-٧) ازدواج الحركات المغزلية Spin – spin coupling



شكل (٤-٨) امتصاص ثنائى وثلاثى فى طيف الرنين النووى المغناطيسى

ويوضح شكل (٤-٩) طيف الرنين النووى المغناطيسى لمركب كحول الايثانول

تظهر مجموعة الميثيل امتصاص ثلاثي عند قيمة انتقال كيميائي 1.22 ppm لأن جميع بروتونات مجموعة الميثيل متكافئة فيكون لها امتصاص واحد ولكنها تجاورذرة كربون تحمل ذرتي هيدروجين فتؤثر كل ذرة من تلك الذرتين على امتصاص مجموعة الميثيل وتقسمه الى قسمين متساويين ويتداخل القسم الثاني والثالث معا ليكون في النهاية نسبة التقسيم 1:2:1 كما هو موضح فى شكل (٤-١٠):

اما مجموعة الميثيلين CH_2 المجاورة لمجموعة الميثيل CH_3 فانها لها امتصاص واحد لأنها تحمل بروتونين متكافئين ويتأثر هذا الامتصاص بثلاثة بروتونات مجموعة الميثيل فتقوم كل واحدة من بروتونات الميثل بشق امتصاص مجموعة الميثيلين الى نصفين تتداخل هذه الانشقاقات حتى تعطي في النهاية امتصاص رباعي بنسبة 1: 3: 3: 1

ولسهولة توقع امتصاص أي مجموعة فانها هي نفسها لها امتصاص واحد يضاف اليها امتصاصات بعدد ذرات الهيدروجين التي تحملها ذرة الكربون المجاورة.

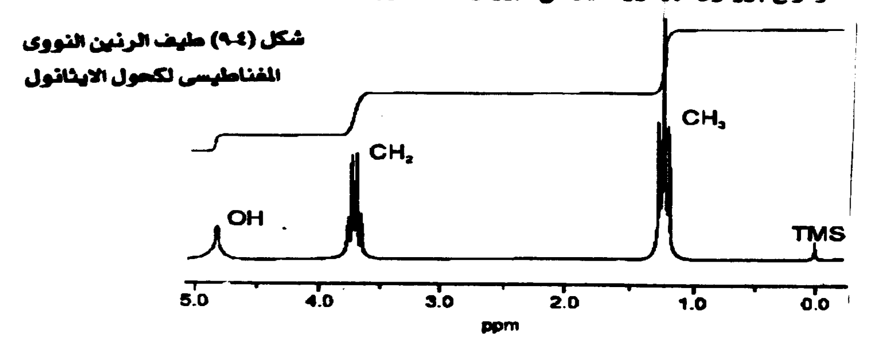
اي ان عدد الامتصاصات للبروتونات الموجودة على أي ذرة كربون = عدد البروتونات التي تحملها ذرة الكربون المجاورة + ١

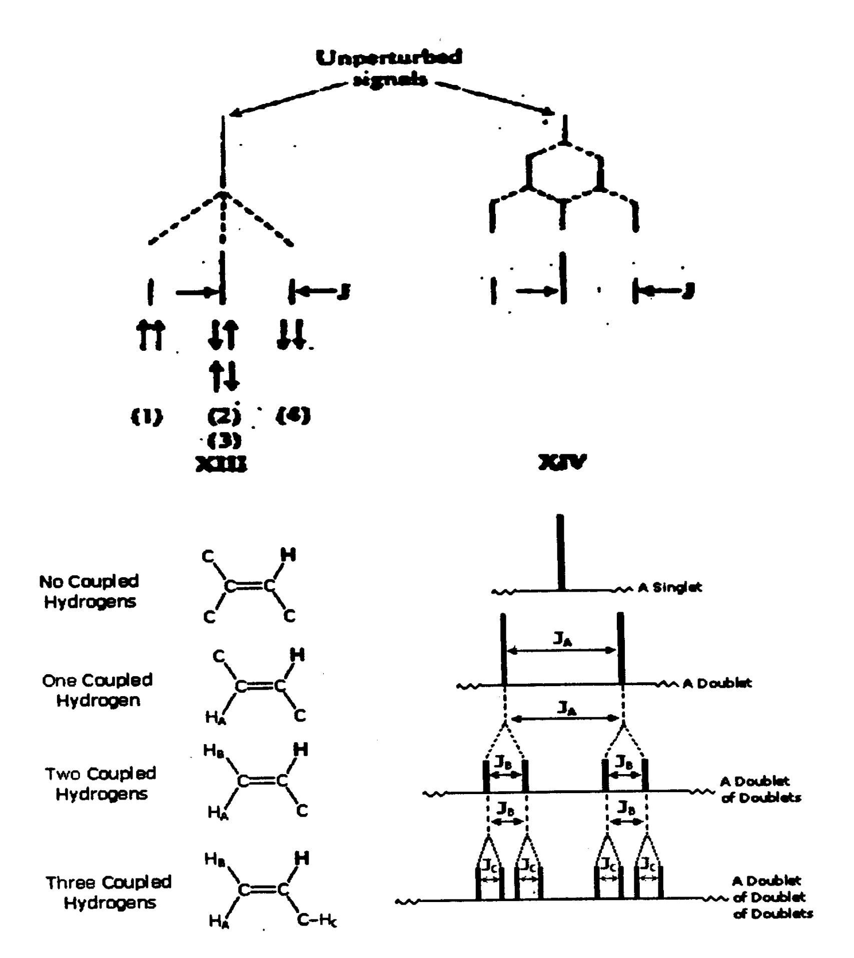
وبذلك يكون امتصاص مجموعة الميثيل في كحول الايثانول = ٢ +١ = ٣

اما امتصاص مجموعة الميثيلين في كحول الايثانول = ٣ +١ = ٤

اما امتصاص مجموعة الهيدروكسيل في كحول الايثانول = ١ لأن ذرة الأكسيجين تحول دون ازدواج بروتون الهيدروكسيل مع البروتونات المجاورة.

شكل (٤-٩) طيف الرنين النووى المغناطيسى لكحول الايثانول





شكل (٤-١٠): كيفية تأثير البروتونات المتجاورة على بعضها Spin-spin splitting

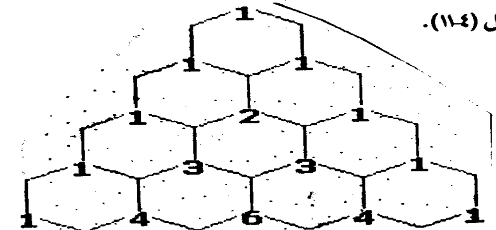
ومن الجدير بالذكر أن قيمة ثابت الأزدواج (J) coupling constant لا تتغير بتغيير شدة المجال المغناطيسى الخارجى بعكس الأنتقال الكيماوى الذى يتوقف على شدة هذا المجال ، وبناء على قيمة J & δ يمكن تقسيم طيف NMR إلى طيف الرتبة الأولى وطيف الرتبة الثانية.

طيف الرتبة الأولى First order spectra

وفيه تكون قيمة δ بين المجموعتين اللتين يحدث بينهما الأزدواج المغزلى كبيرة ، ويكون عدد الأنقسامات فى كل امتصاص رئيسى مساويا (n+1) حيث n هى عدد ذرات الهيدروجين فى المجموعة المجاورة. وإذا كانت هناك مجموعة مجاورة اخرى تختلف فى قيمة الإنتقال الكيميائى عن المجموعة الأولى ، فيجب الأخذ فى الأعتبار التأثير الناتج من المجموعتين كل على حدة.

المجموعة CH_y-CH_a-CH_x يكون تأثير ذرة الهيدروجين H_x على ذرة H_a هو انقسامها إلى إمتصاصين ويكون تأثير الذرة H_y على الذرة H_a هو انقسام هذين الأمتصاصين إلى أربعة إمتصاصات. ثم يحدث تداخل بين الإمتصاصين القريبين ويتضاعف كثافة الإمتصاص لتصبح 1 :2 :1 بدلاً من أن تكون النسبة 1 :1 :1 :1

وعلى ذلك فإن الكثافة النسبية للأنقسامات فى هذه الرتبة تتبع العلاقة الموضحة فى الرسم التخطيطى فى شكل (٤-١١).



Pascal's Triangle.

no. of neighbors	relative intensities	pattern	example
0	1	singlet (s)	
1	1 1	doublet (d)	
2	1 2 1	triplet (t)	
3	1 3 3 1	quartet (q)	
4	1 4 6 4 1	pentet	RCH_2-CHR'-CH_2R
5	1 5 10 10 5 1	sextet	CH_3-CH_2-CH_2R' (equal J's)
6	1 6 15 20 15 6 1	septet	CH_3-CHR-CH_3

شكل (٤-١١) الكثافة النسبية للأنقسامات الداخلية نتيجة تأثير البروتونات المتجاورة

وكذلك يكون قيمة J فى هذه الرتبة كبيرة بين البروتونات التى لا تنفصل عن بعضها بأكثر من ٣ روابط كيميائية، وتقل بعد ذلك بحيث تكون قيمته أقل من عرض الأمتصاص الرئيسى وبذلك لا يمكن ملاحظته.

ويطلق على البروتونات التى تختلف بدرجة كبيرة فى قيمة الأنتقال الكيميائى بالرمز AX للنظام الذى يحتوى على نوعين من البروتونات (بروتونات A وبروتونات X) ويعطى النظام فى هذه الحالة طيفاً من الدرجة الأولى ويمكن تفسيره بواسطة قواعد الرتبة الأولى.

طيف الرتبة الثانية Second order spectra

إذا كان الأختلاف فى الأنتقال الكيميائى بين البروتونات متوسطاً فيرمز للنظام AM أو ABC للنظام الذى يحتوى على نوعين أو ثلاثة أنواع من البروتونات على التوالى ، ويكون طيف هذا النظام هو طيف الرتبة الثانية والذى يصعب تفسيره فى معظم الحالات من نتائج تجربة واحدة ، ويستعان ببعض التجارب الإضافية لإمكان تفسير هذا النظام مثل إزالة الإزدواج decoupling أو أستخدام اجهزة ذات مجال مغناطيسى قوى أو إستخدام جواهر كشافة تزيد من قيمة الأنتقال الكيميائى.

الأزدواج بين الأنوية الأخرى Coupling with other nuclei

يمكن أن يحدث إزدواج بين بروتون الهيدروجين ونوايا بعض الذرات الأخرى التى لها خواص مغناطيسية مثل الفوسفور والفلور، وعلى ذلك فإن عدد الأنقسامات فى أمتصاص البروتونات الناتجة من تأثير الفلور أو الفوسفور، تكون متشابهة لتلك الناتجة من البروتون. ولكن الملاحظ فى هذه الحالة أن قيمة J يكون كبيراً وقد يحدث خلال عدة روابط. وقد تصل قيمة ثابت الازدواج J إلى 12Hz بين الفوسفور والبروتون ($J_{P\text{-}H}$)

فى مركب 2, 2,2-Trifluoroethanol CF_3- CH_2-OH نلاحظ ان إمتصاص مجموعة CH_2- يظهر فى صورة أربعة إنقسامات نتيجة لوجود ٣ ذرات فلور مجاورة.ويختلف البروتون المرتبط بذرة غير ذرة الكربون من حيث أنه يكون أقل إرتباطاً بهذه الذرات، وبذلك يكون أقل تعرضاً للتأثير الناتج من المجال المغناطيسى للبروتونات

المجاورة. وبذلك فإنه فى حالات كثيرة يعطى إمتصاصاً فردياً singlet كما أن دخول البروتون فى هذه الذرات يجعل موضع إمتصاصه غير ثابت بل يتوقف على كثير من الظروف المحيطة فى المحلول مثل التركيز ونوع المذيب ودرجة الحرارة.

OH- فى الكحولات يمتص فى مدى كبير δ 2-5.35 ويتوقف ذلك على التركيز ودرجة الحرارة. ومن ناحية أخرى يكون الإمتصاص singlet لأن البروتون سريع التبادل مع الوسط ، ولذلك لا يستمر مدة كافية على ذرة الأكسجين حتى يحس بالتأثير المغناطيسى من البروتونات المجاورة ، ولذلك لا يحدث إزدواج بين هذا البروتون والبروتونات المجاورة.

معاملة الكحولات النقية ببعض المركبات الخاصة مثل الأسيتون acetone أو مركب dimethylsulfoxide يؤدى إلى أنخفاض معدل تبادل البروتون فى مجموعة OH- وفى هذه الحالة يحدث إزدواج بين هذا البروتون والبروتونات المجاورة ويصبح إمتصاص OH- ثلاثياً triplet فى الكحولات الأولية وثنائياً doublet فى الكحولات الثانوية.

إزالة الإزدواج المغزلى Spin decoupling

يعتبر ازالة الازدواج المغزلي من الطرق الفعالة فى تبسيط طيف NMR وكذلك لتحديد مصدر الأنقسام فى كل إمتصاص رئيسى، فإذا تصورنا مجموعتين من البروتونات A & B يحدث بينهم إزدواج مغزلى وتعطى مثلاً إمتصاص ثنائى لكل منهما -CH-CH- فإنه يمكن إزالة هذا الإزدواج المغزلى عن طريق إعطاء حزمة أشعة إضافية للذرة.

الجواهر الكشافة التى تزيد الأنتقال الكيميائى Shift reagent

يؤدى إستخدم الجواهر الكشافة إلى تبسيط طيف NMR وتأثيرها يشبه إستخدام مجال مغناطيسى قوى ، حيث يضاف الـ shift reagent إلى محلول العينات وأشهر هذه الجواهر بعض عناصر اللانثانيدات ومنها اليوربيوم Eu مع مجموعة عضوية حيث ترتبط هذه الجواهر مع المجموعات القطبية فى الجزىء وتكون معقد. ونظراً لأن هذه الجواهر عبارة عن مواد paramagnetic فهى تؤدى إلى تغيير الأنتقال الكيميائى للمجموعات القريبة من الأرتباط فى المعقد.

التعرف على التركيب الجزيئي

من أهم المعلومات التى نحصل عليها من nmr spectrum ما يلى:-

١-الأنتقال الكيميائى للإمتصاصات (δ) chemical shift

الانتقال الكيميائي يحدد نوع البروتونات فى الجزىء حيث أن عدد الإمتصاصات يدل على أنواع البروتونات (الهيدروجين) الموجودة فى الجزىء فنجد مثلاً ان مركب $C_6H_5\text{-}CH_2\text{-}CH_3$ يعطى ثلاثة إمتصاصات عند ثلاثة قيم مما يوضح أن هناك ثلاثة أنواع من البروتونات تختلف عن بعضها من ناحية الظروف الأليكترونية بينما نجد مركب $CH_3\text{-}OH$ يعطى إمتصاصين فقط عند قيمتين مختلفتين من الأنتقال الكيميائى ليدل بذلك على وجود نوعين من البروتونات. والطريقة النموذجية للتعرف على التركيب الجزيئى للمركب هى البدء بالرمز الجزيئى له molecular formula وذلك لتحديد درجة عدم التشبع unsaturation أو عدد الحلقات العطرية ويفيد فحص الأنتقال الكيميائى chemical shift فى التفرقة بين عدم التشبع والحلقات العطرية ، فإذا كانت هناك إمتصاصات فى المنطقة ما بين δ 8.5 :7 فهذا يدل على وجود حلقة عطرية أما إذا ظهر إمتصاص فى المنطقة δ 6 :4.5 فيمكن إفتراض وجود رابطة زوجية.

٢-عدد الأنقسامات الداخلية فى كل إمتصاص رئيسى Spin Spin Coupling

إن فحص عدد الأنقسامات فى كل إمتصاص رئيسى يفيد فى تحديد الوضع النسبى لهذه البروتونات ، فالأنقسام الثلاثى يشير إلى وجود مجموعة CH_2 مجاورة أو مجموعة CH على كل جانب ، أما الأنقسام الرباعى يشير إلى وجود مجموعة CH_3 مجاورة أو مجموعتين إحداهما CH_2على جانب ، CH على الجانب الأخر، أما الأنقسام الثنائى يشير إلى وجود مجموعة CH مجاورة وهكذا.

وإذا كان الجزىء يحتوى على ذرة اكسجين أو نتروجين فإنه يجب أن نبحث عن إمتصاص فردى عريض للبروتون لمجموعة OH أو NH وفى حالة عدم وجود هذا الإمتصاص فإن هناك إحتمالاً لأن تكون المادة مركب كربونيلى C=O أو R-O-R

٣-كثافة الإمتصاصات integration

يوضح نسبة ذرات الهيدروجين إلى بعضها فى الجزىء وكذلك عدد البروتونات فى كل مجموعة إمتصاص حيث أن كثافة كل إمتصاص يتناسب طردياً مع عدد ذرات الهيدروجين.

٤- ثابت الإزدواج (J) Coupling Constant

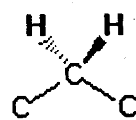
إن عملية الإزدواج لا تظهر فى البروتونات المتكافئة مغناطيسيا مثال ذلك البروتونات الموجودة على مجموعة CH_3 لأن هذه البروتونات لها نفس التردد ويكون لها نفس ثابت الإزدواج مع البروتونات التى فى المجموعات المتجاورة. وهذه الثلاثة بروتونات فى المجموعة $C\text{-}CH_3$ لها حرية الدوران حول الرابطة الكربونية. أما فى حالة البروتونات الغير متكافئة مغناطيسيا يحدث لها إزدواج بقيم مختلفة مع بروتون معين من المجموعة الأخرى.

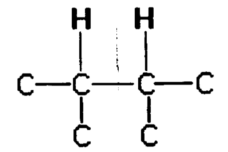
ويقسم ثابت الإزدواج إلى ثلاثة أصناف:-

Geminal coupling وهو إزدواج للبروتونات على نفس ذرة الكربون ويفصل البروتونات فى هذه الحالة رابطتان H-C-H

Vicinal coupling وهو إزدواج للبروتونات المتجاورة ، ويفصل البروتونات فى هذه الحالة ثلاثة روابط كيميائية H-C-C-H or H-C=C-H

Long range coupling وهو الإزدواج على مدى طويل مثال ذرات الهيدروجين على جزئ البنزين أو الهكسان الحلقي. ويوضح شكل (٤-١٢) الفرق فى وضع ذرات الهيدروجين Vicinal and Geminal hydrogens





شكل (٤-١٢) الفرق فى وضع ذرات الهيدروجين Geminal & Vicinal

وعموما قيمة ثابت الإزدواج مهمة جداً فى عملية تفسير الـ spectrum حيث أن قيمة (J) coupling constant بين البروتونات (الهيدروجين) تكون صغيرة حيث نجد أنها مثلاً فى المركب HC-CH تتراوح بين 2-9 H_z بينما فى المركب $-CH_2$ تتراوح بين 12-20 H_z

كما ان قيمة ثابت الازدواج J تختلف فى المشابهات الهندسية فبينما نجد أن قيمة J فى المركب *cis*- ethylene تساوي 6-14Hz نجده يكون فى المدى 11-18Hz فى المشابة *trans*- ethylene

اما فى حالة الإزدواج بين ذرات الهيدروجين والفلور أو بين ذرات الهيدروجين والفوسفور فيكون قيمة ثابت الازدواج أكبر بكثير من حالة الازدواج بين الهيدروجين مع الهيدروجين كما هو موضح فى جدول (٤-٤):

جدول (٤-٤) ثابت الازدواج بين الهيدروجين وذرات أخرى

قيمة ثابت الازدواج (H_z) J	حالة الازدواج
5 - 25	H-C-C-F
12 - 40	H-C=C-F
44 - 81	H-C-F
5	H-C-C-C-F
200	H-P
10	H-C-P=O

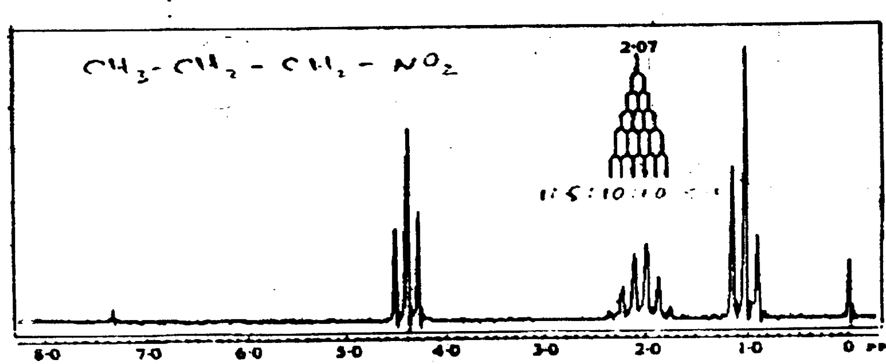
الرنين النووي المغناطيسي للكربون والفلور ^{13}C and ^{19}F

لا تختلف الخواص المغناطيسية للفلور عن البروتون ولذلك فإن التحليل الطيفى لكلاهما متشابة ، أما فى حالة ^{13}C فإن وجوده الطبيعي يمثل ١,١١ ٪ فقط كما أن درجة حساسيته فى الـ nmr أقل بكثير من الأنوية الأخرى مما يجعل الأمتصاص الناتج عنه ضعيف. ووجود ^{13}C بنسبة ضئيلة يعتبر مفيداً حيث ان التأثير المغزلى بين البروتون والكربون يكون غير واضح.

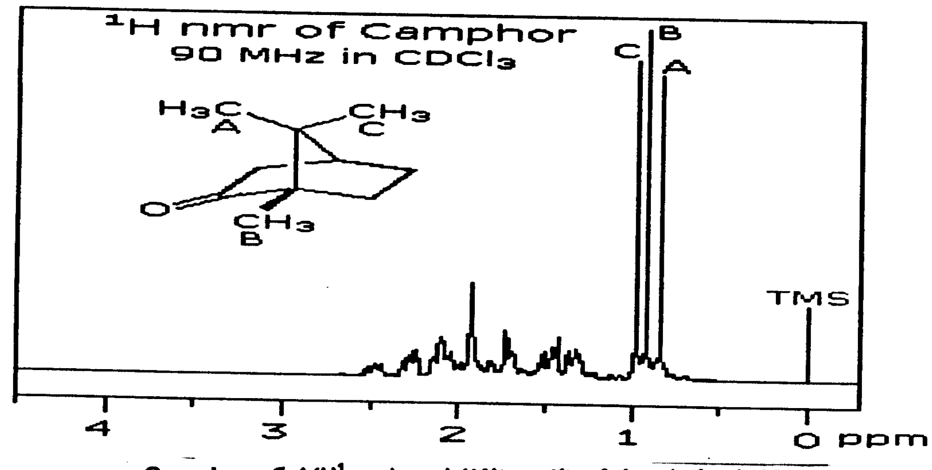
وفيما يلي بعض التحليلات بواسطة جهاز الرنين النووي المغناطيسي كما هو موضح فى شكل (٤-١٣) لمركب nitropropane، شكل (٤-١٤) لمركب Camphor، شكل (٤-١٥) لمركب 3,5- Dimethyl benzorc acid، شكل (٤-١٦) لمركب 1,2- Dichloroethare وشكل (٤-١٧) لمركب 1,1- Dichbro cthane وشكل (٤-١٨) لمركب Ethyl acetate وشكل (٤-١٩) لمركب Chloroacetic acid

الرنين النووى المغناطيسى للكربون ١٣

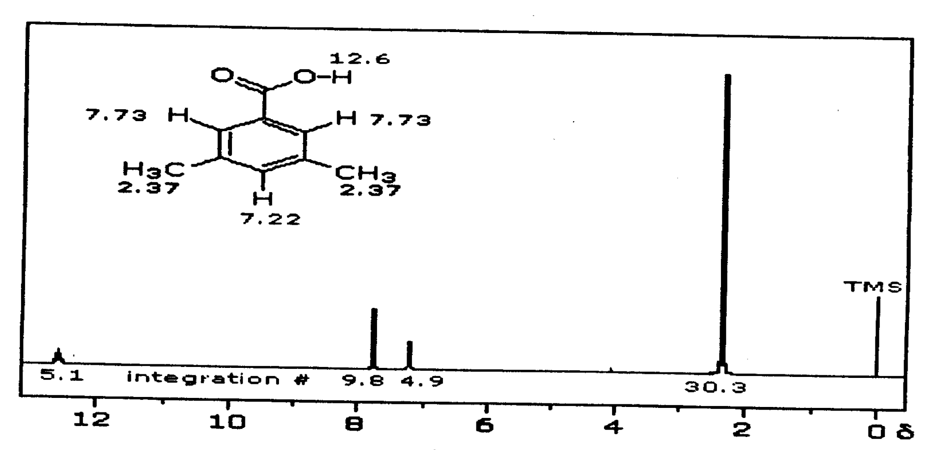
يجدر الإشارة هنا أنه لا يحدث إزدواج بين ^{13}C ، ^{13}C اخرى لأن إحتمال وجود ذرتى كربون ^{13}C متجاورتين فى الجزىء إحتمال ضئيل جداً ولكن يمكن ان يحدث إزدواج بين ^{13}C وبين ذرات الهيدروجين المجاورة وقد يصل مدى الإزدواج إلى أربعة روابط كيميائية ، وفى هذه الحالة يكون الطيف معقد للغاية. ولذلك هنا نستخدم طريقة إزالة الإزدواج spin-decoupling وتحت هذه الظروف فإن طيف nmr للكربون ١٣ يظهر فى صورة إمتصاصات فردية ويعبر كل إمتصاص عن ذرة كربون واحدة فى ظروف إليكترونية معينة.وباستخدام nmr للكربون ١٣ يمكن الحصول على صورة واضحة عن الهيكل الكربونى العام للجزىء. ويلاحظ أيضا ان الإنتقال الكيميائى فى الكربون ١٣ يشغل مدى كبير أيضا حوالى δ 250 جزء فى المليون. ويستخدم TMS أو CS_2 كمادة قياسية فى حالة الكربون ١٣. ويوضح شكل (٤-٢٠) الرنين المغناطيسى للكربون ١٣ لمركب Camphor، ويوضح شكل (٤-٢١) الرنين النووى المغناطيسى للكربون ١٣ لمركب N –Ethyl –p– Toluidine



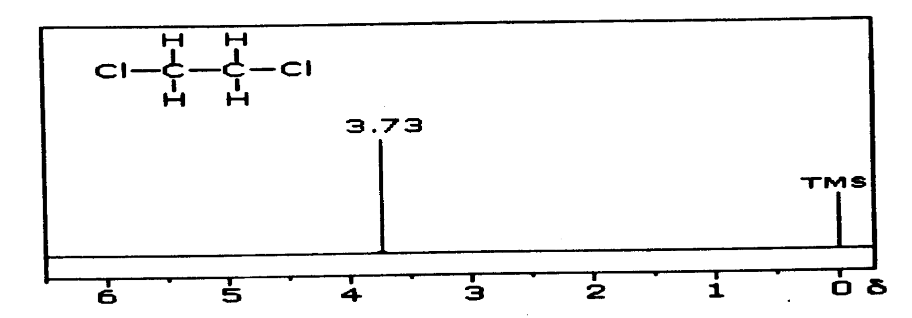
شكل (٤-١٣) طيف الرنين النووى المغناطيسى nitropropane



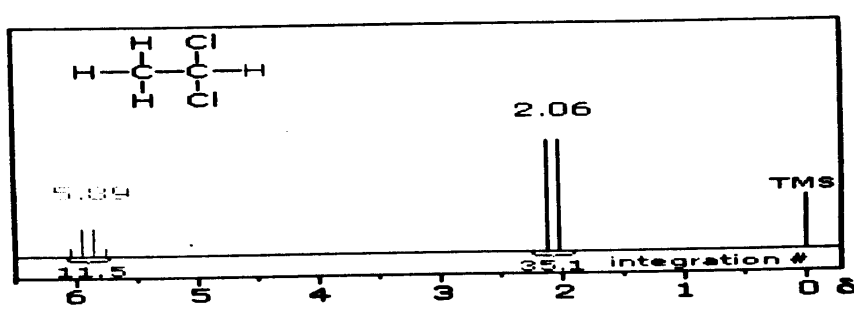
شكل (٤-١٤) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب Camphor



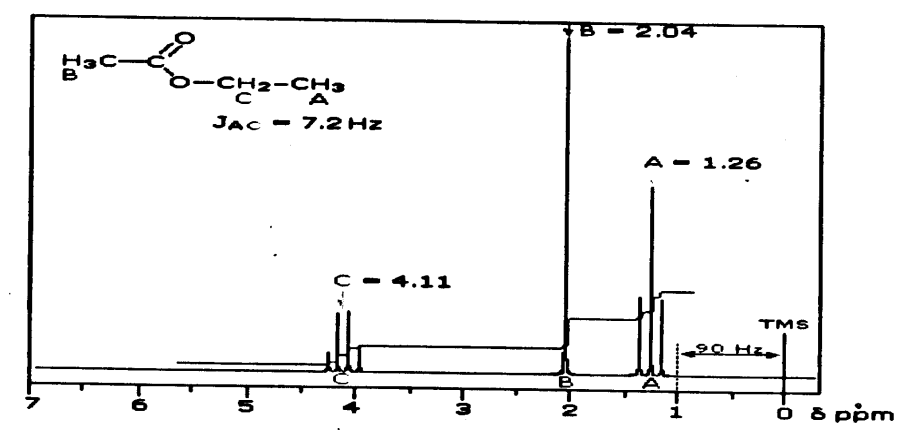
شكل (٤-١٥) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب 3,5- Dimethyl benzoic acid



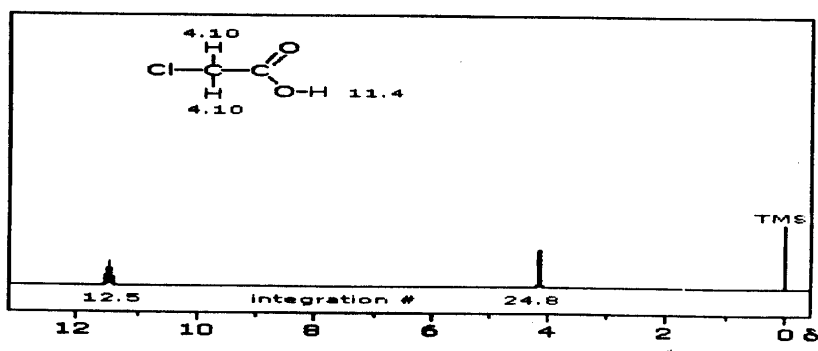
شكل (٤-١٦) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب 1,2-Dichloroethane



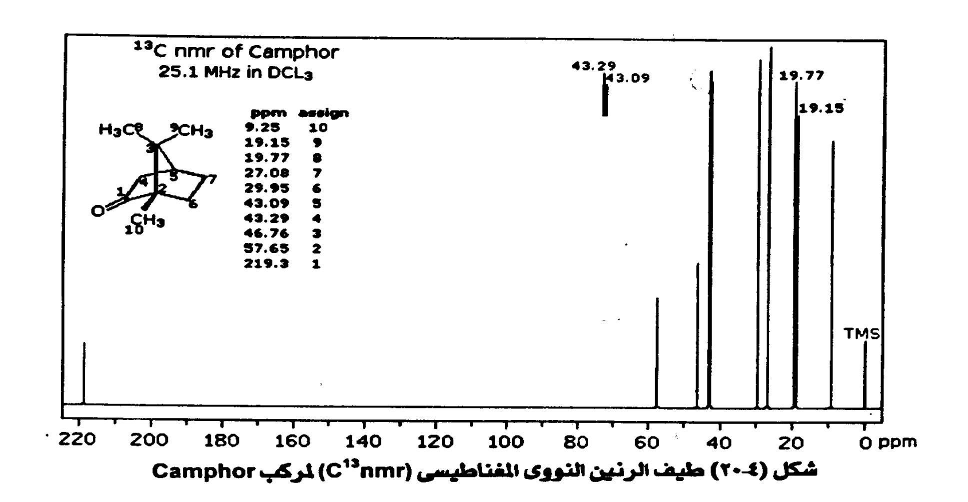
شكل (٤-١٧) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب 1,1 - Dichloroethane



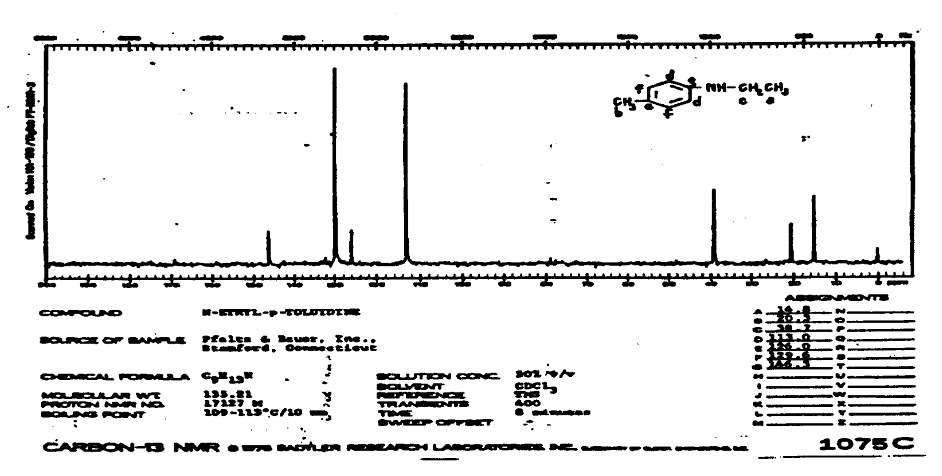
شكل (٤-١٨) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب Ethyl acetate



شكل (٤-١٩) طيف الرنين النووى المغناطيسى (H^1nmr) لمركب Chloroacetic acid



شكل (٤-٢٠) طيف الرنين النووى المغناطيسى (C¹³nmr) لمركب Camphor



شكل (٤-٢١) طيف الرنين النووى المغناطيسى (C¹³nmr) لمركب N-Ethyl-p-Toluidine

الرنين النووى المغناطيسى للفلور ١٩

يختلف nmr للفلور عن البروتون فى أن طاقة الإمتصاص تكون قليلة فى حالة الفلور وذلك يعتبر ميزة هامة حيث يمكن بذلك إجراء التحليل للفلور فى وجود البروتونات فى الجزىء بإختيار مصدر أشعة مناسب يكفى فقط للفلور. ويختلف أيضا الفلور عن البروتون فى أن قيمة الإنتقال الكيميائى (δ) تكون فى مدى كبير حوالى 500 ppm وقد يصل إلى 1000 ppm بينما فى حالة البروتونات يكون δ فى حدود 10-15 ppm

المادة المرجعية فى حالة الفلور هى Trichloro fluoro methane $CFCl_3$ حيث يعتبر الإنتقال الكيميائى لهذه المادة يساوى صفر. وهنا يمكن أن يحدث إمتصاص قبل المادة المرجعية أو بعدها.

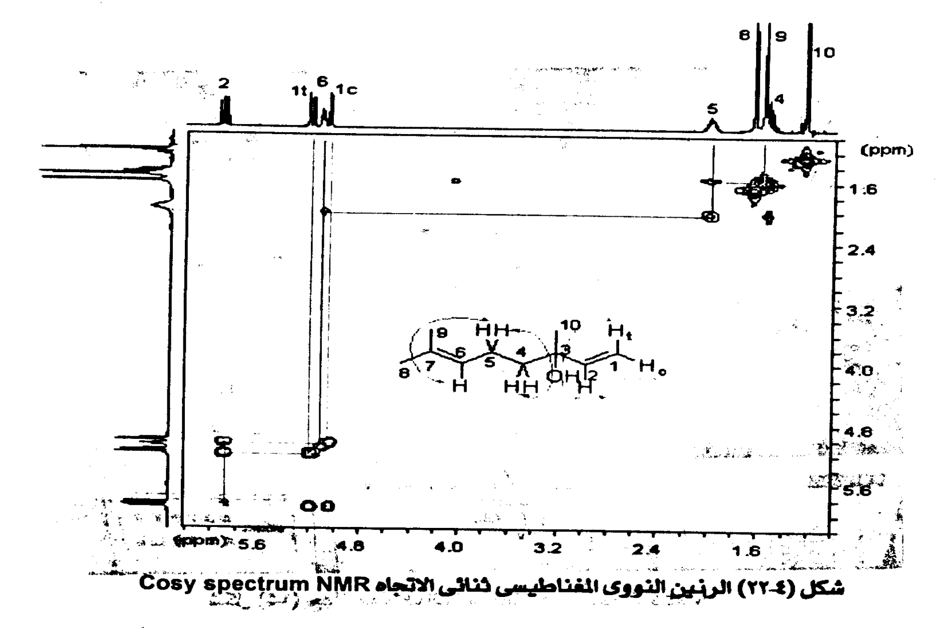
ويلاحظ أنه يحدث إزدواج مغناطيسى بين الفلور والفلور المجاور أو بين الفلور والبروتون المجاور وعلى ذلك فإن الطيف فى معظم الأحيان يتكون من عدد كبير من الإمتصاصات نتيجة لهذا الإزدواج ، وتكون قيمة الإزدواج فى هذه الحالة كبيرة حيث تكون فى حدود F - F = 2 - 300 Hz F - H = 40 – 90 Hz

طيف الرنين النووي المغناطيس ثنائي الاتجاه

Two-Dimentional (2D) NMR Techniques

يستخدم هذا الـ technique لشرح عملية ازدواج وتداخل الأنوية مع بعضها أي توضيح تداخل البروتونات مع بعضها لشرح عملية splitting أو تداخل البروتونات مع الكربون المجاور لها حيث يتم رسم طيف الرنين النووي على المحور السيني وكذلك على المحور الصادي. كما هو موضح فى الشكل (٤-٢٢)

وهنا يستخدم نطاقين من ذبذبات أشعة الراديو two radio frequency pulses مع تغيير الزمن بين كل نطاق بحيث يتم بث نطاق تلو الآخر.



شكل (٤-٢٢) الرنين النووى المغناطيسى ثنائى الاتجاه Cosy spectrum NMR

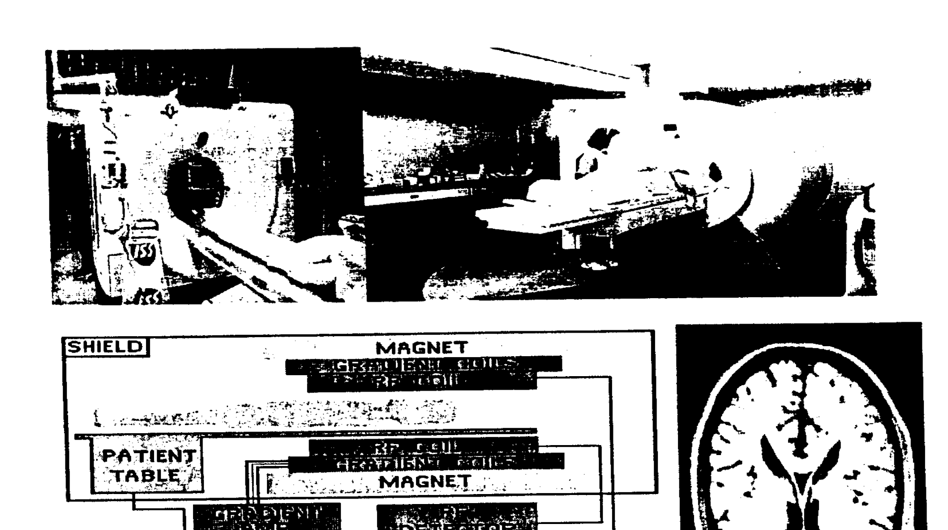
وعندما نستخدم Two-Dimentional (2D) NMR Techniques لطيف H^1 nmr يطلق عليه Correlation Spectroscopy H^1-H^1 أو يسمى COSY وهو مفيد في استنتاج العلاقة بين تداخلات ازدواج البروتونات مع بعضها.

كما يوجد technique آخر يستخدم لشرح وفهم طبيعة التداخلات بين البروتونات مع ذرات اخرى مثل الكربون مثلا H^1-C^{13} ويطلق على هذا النوع Heteronuclear Correlation Spectroscopy أو يسمى HETCOR

الرنين النووى المغناطيسى فى مجال البيولوجى NMR in Biology

حديثا يستخدم الرنين النووى المغناطيسى فى مجال البيولوجى وتحديداً فى مجال الطب حيث يتم رسم صورة لأجزاء الجسم soft tissnes مثل المخ وغيرها ويسمى magnetic resonance imaging(MRI) وعن طريق حسابات بواسطة الكومبيوتر المتصل بالجهاز يمكن حساب أبعاد وقياسات كل جزء من هذه الأنسجة لتحديد إذا كان بها

أورام أو غيرها، كما يمكن أيضاً أن يتم تتبع الغضاريف والفقرات فى العنصر والفقرات القطنية عن طريق رسم MRI لها. ويوضح شكل (٤-٢٣) صورة للجهاز وكيفية إدخال المريض وكذلك صورة لنسيج المخ مع رسم تخطيطى للجهاز.



شكل (٤-٢٣) الرنين النووى المغناطيسى فى مجال البيولوجى Magnetic resonance Imaging (MRI)

الفصل الخامس

جهاز مطياف الكتلة

Mass Spectrometer (MS)

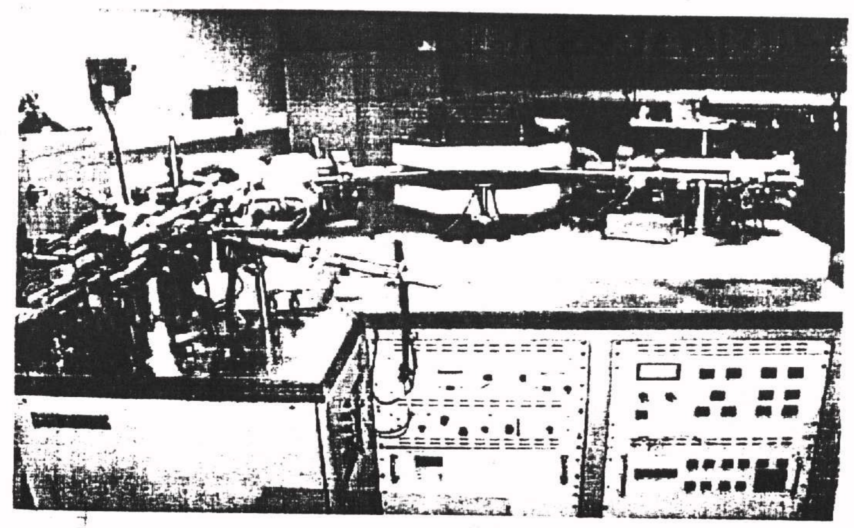
مقدمة:

يستخدم جهاز مطياف الكتلة فى التعرف على الوزن الجزيئى للمركبات العضوية حيث تتعرض جزيئات المادة المطلوب تحليلها بواسطة جهاز مطياف الكتلة إلى قدر عالى من الطاقة ويكون أكبر بكثير من الطاقة اللازمة لعملية الإنتقالات التي تحدث في حالة التحليل بالأشعة تحت الحمراء أوالمرئية أوالفوق بنفسجية ، حيث يتم قذف bombarding العينة بواسطة حزمة من الإليكترونات السريعة الحركة electron beam فتمتص العينة هذه الطاقة ويؤدي هذا الإمتصاص الطاقي إلى أنفصال أليكترون أو أكثر من الجزىء اى تحدث عملية تأين ionization للجزىء وتتكون أيونات موجبة positive ions للجزىء الأصلى بالاضافة إلى تكسير بعض الروابط الضعيفة فى الجزىء مما يؤدى إلى تكوين أيونات صغيرة تسمى شظايا fragments.

ويوضح شكل (٥-١) صورة عامة لجهاز مطياف الكتلة Mass Spectrometer

وبذلك نجد أنه عند تعرض الجزىء لهذه الطاقة الهائلة الناتجة عن حزمة الأليكترونات electron beam يتكون عدد من الأيونات الموجبة تختلف عن بعضها فى الكتلة (m) mass والشحنة (e) charge ويتم فصل هذه الأيونات على أساس إختلافها فى نسبة الكتلة إلى الشحنة m / e بإستخدام مجال مغناطيسى أو بإستخدام مجال مغناطيسى مزدوج مع مجال كهربى. وبذلك يتم تسجيل نتائج التحليل فى صورة طيف كتلة mass spectrum يوضح كتلة هذه الأيونات وتركيزها.

وبذلك نجد أن تحليل العينات باستخدام جهاز Mass spectrometer يعتمد على عمليتين أساسيتين تحدث للمركب بعد قذفه بحزمة من الأليكترونات وهما التأين ionizationوالتكسير fragmentation



شكل (٥-١) جهاز مطياف الكتلة Mass Spectrometer

عملية التأين، وفيها يحدث فقد اليكترون واحد من الجزىء ويتكون ما يسمى بالأيون الجزيئى molecular ion وكتلة هذا الأيون تساوى كتلة الجزىء وذلك لأن كتلة الأليكترون الذى فقده ضئيلة جداً جداً لاتؤثر على وزنه الجزيئي.

عملية التكسير، وفيها يتم تكسير الروابط الضعيفة فى الأيون الجزيئى الى شظايا أو أيونات أصغر فى الوزن الجزيئى fragment ions

ويتم تحليل العينات الغازية أو السائلة أو الصلبة التى يمكن تحويلها إلى الصورة البخارية بإستخدام درجات حرارة معتدلة ، كما أن كمية المادة المطلوبة للتقدير في حدود الميكروجرامات.

وبدراسة طيف الكتلة MS لأي مركب يمكن تمييز الأيون الجزيئى وبالتالى يمكن تقدير الوزن الجزيئى والرمز الجزيئى للمركب، والتركيب الجزيئى يمكن معرفته من موضع التكسير فى الأيون الجزيئى حيث أن الروابط الضعيفة تتكسر بسهولة عن الروابط القوية.

مكونات جهاز مطياف الكتلة:

وتوجد تصميمات عديدة لأجهزة مطياف الكتلة ولكنها تشترك جميعها فى خمسة مكونات رئيسية كما هو موضح فى الشكل التخطيطى (٥-٢).

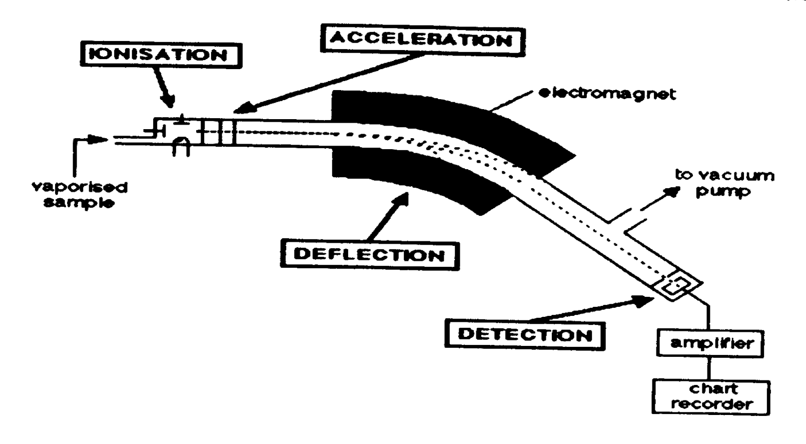
١- وحدة وضع العينة	Sample handling system
٢- حجرة تأين	Ionization chamber
٣- وحدة فصل أو فرز الأيونات	Ion analyzer or separator
٤- وحدة جمع الأيونات وتكبيرها	Ion collector & amplifier
٥- وحدة تسجيل	Recorder

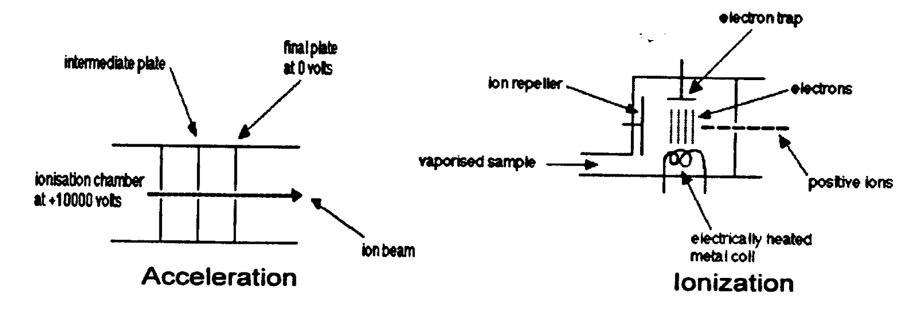
وبالإضافة إلى المكونات الخمسة السابقة فإن الجهاز يحتوى على وحدة تفريغ عالية High Vacuum Pump لتفريغ الهواء من وحدة وضع العينة وحتى وحدة التسجيل.

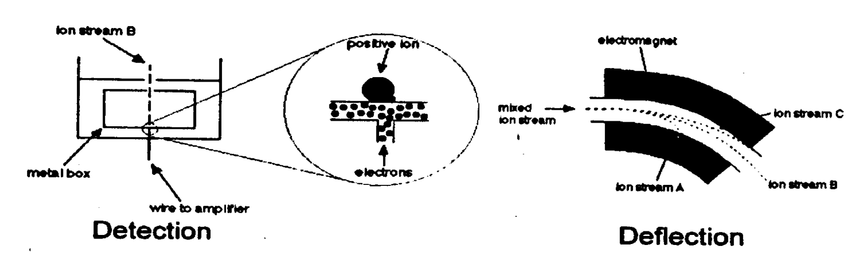
وعلى الرغم من بساطة فكرة الجهاز إلا أنه فى تركيب وتشغيل هذا الجهاز يعتبر من اعقد الأجهزة الأليكترونية والميكانيكية المستخدمة فى مجال الكيمياء وهو مرتفع الثمن جداً نظ أ لمتطلبات التشغيل.

وحدة وضع العينة Sample handling system

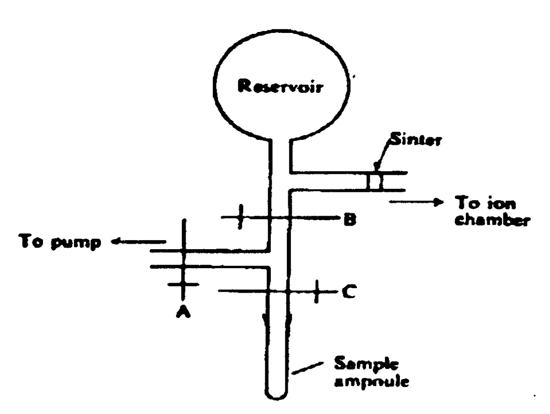
يوجد بالجهاز أكثر من نظام لإدخال العينة سواء كانت غازية أو سائلة أو صلبة ، وفى جميع الحالات تحول المادة إلى الصورة الغازية والتى تنطلق بدورها إلى خزان خاص سعته خمسة لترات بحيث يكون الضغط فى هذا الخزان أعلى مرتين من الضغط فى حجرة التأين وذلك لضمان إنتقال العينة من وحدة العينة إلى غرفة التأين المفرغة ، ويوجد بين وحدة وضع العينة ووعاء التأين مقياس ضغط دقيق micro manometer لتقدير كمية العينة الداخلة إلى حجرة التأين. وتحتوى وحدة إدخال العينات على فتحتين إحداهما لإدخال المواد الغازية والسائلة Gas & Liquid inlet والأخرى لإدخال المادة الصلبة Solid vaporization inlet كما هو موضح فى شكل (٥-٢).







شكل (٥-٢) رسم تخطيطي لجهاز مطياف الكتلة **Mass Spectrometer**



شكل (٥-٣) وحدة وضع العينات فى جهاز مطياف الكتلة

المواد الغازية: تحقن العينات في حدود $0.1\ cm^3$ بواسطة سرنجة دقيقة وقد يصل الحجم الى $10^{-8}\ cm^3$ حيث يتم تمدد العينات خلال وعاء أو خزان العينة.

العينات السائلة: إما أن يتم إدخالها بواسطة ماصة صغيرة خلال Sintered glass disk أو تحقن خلال حاجز من المطاط والسليكون وإذا كانت هذه المواد السائلة درجة غليانها أقل من ١٥٠°م فإنها سوف تتحول إلى بخار على درجة حرارة الغرفة نتيجة الضغط المنخفض فى وعاء العينة .

وفى حالة **السوائل الأقل تطايرا** : فإنه يمكن تسخين وحدة وضع العينة حتى حوالى ٢٠٠°م ، وتتوقف درجة التسخين المستخدمة على تركيب ودرجة ثبات المادة المراد تحليلها ومن المعروف أن المواد المحتوية على نتروجين أو اكسيجين يحدث لها إنحلال حرارى thermal decomposition على درجات حرارة أعلى من ٢٠٠°م.

العينات الصلبة: العينات التى تنصهر عند درجة أقل من درجة حرارة وعاء العينة يمكن إدخالها مباشرة وتسخن العينة بعد ذلك للوصول الى ضغط بخارى مناسب ويكون حجم العينة فى حالة المواد الصلبة أوالسائلة عدة ملليجرامات وقد يصل إلى ميكروجرامات.

والمطلوب للتحليل تدفق مناسب وثابت من العينة إلى الشعاع المؤين خلال عملية التحليل Steady flow of sample into the ion beam

وبصفة عامة نجد أن حجم العينة وكذلك درجة تطايرها تتشابه مع تلك المتوفرة فى جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالغاز حيث يعتبر فى هذه الحالة وسيلة لفصل مخاليط المركبات وهنا يمكن دمج جهازي التحليل الكروماتوجرافي الغازي وجهاز تحليل الطيف الكتلي معا ويسمى جهاز GC-MS حيث يسمح للعينة عن طريق فتحة تسرب ضئيلة جداً من عمود الـ GC بالدخول إلى الـ MS وذلك بعد فصلها وتحويلها إلى بخار ويمكن التخلص من الغاز الخامل الحامل للعينة أثناء خروجها من عمود الـ GC وذلك بواسطة تمريره من خلال أنبوبة زجاجية رقيقة الجدار (إذا كان الغاز الحامل هيليوم) أو من خلال أنبوبة Palladium (إذا كان الغاز الحامل هيدروجين) كما سيأتي شرحه بعد ذلك.

غرفة التأين Ionization Chamber

يسمح للعينة المراد تحليلها بالمرور من وحدة وضع العينة إلى غرفة التأين بعد تحويلها إلى صورة بخارية وفى هذه الحالة أيضاً يكون هناك تدرج فى الضغط حيث أن العينة تبدأ من الضغط الجوى إلى ضغط منخفض داخل وحدة وضع العينة يصل إلى 10^{-2} torr (mmHg) ثم يقل هذا الضغط داخل غرفة التأين ليصل إلى 10^{-5} torr وهكذا يحدث تقليل تدريجى للضغط من نقطة وضع العينة حتى وحدة التسجيل للعينة وذلك لتفريغ الهواء داخل الجهاز وضمان إنتقال العينة من نقطة إلى اخرى بسهولة. ويتم داخل غرفة التأين عملية تأين الجزيئات التى يتم فصلها بعد ذلك ويجب اختيار مصدر التأين المناسب لكل عينة حيث توجد عدة طرق لتأين الجزيئات تتوقف أساساً على نوع العينة والغرض من التحليل.

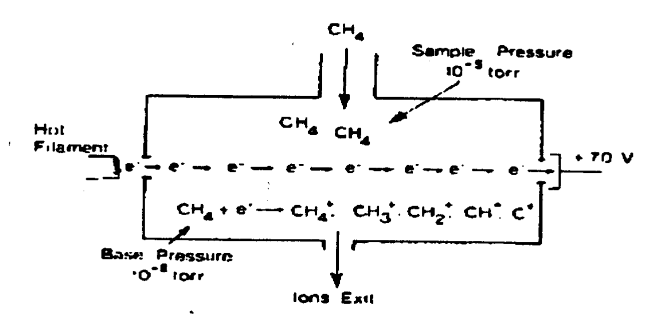
ومصدر التأين له وظيفة مزدوجة هى تأين الجزيئات دون التفرقة بين كتل الأيونات المختلفة ثم اسراع أو تعجيل accelerating هذه الأيونات إلى وحدة تحليل الأيونات.

الطرق المختلفة لعملية التأين:

١-التأين بالتصادم الأليكترونى Electron Impact Ionization (EII)

وهذا المصدر يعتبر الأكثر شيوعا فى اجهزة مطياف الكتلة ، وفى هذه الطريقة يدخل تيار المادة فى صورتها الغازية إلى وحدة التأين والتى تكون مفرغة من الهواء ودرجة حرارتها ٢٠٠°م فتتعرض جزيئات المادة إلى حزمة من الأليكترونات ذات طاقة تبلغ 70 electron volt وتنتج هذه الأليكترونات من فتيل مسخن كهربيا hot filament، وتتحرك هذه الأليكترونات عموديا على إتجاه سريان الجزيئات وذلك بواسطة فرق الجهد ويمكن التحكم فى عدد الأليكترونات عن طريق تغيير درجة حرارة الفتيل وكذلك يمكن التحكم فى طاقة تلك الأليكترونات عن طريق تغيير فرق الجهد.

وعموما عندما تتعرض جزيئات المادة لهذه الأليكترونات المرتفعة الطاقة فإنها تتأين ويتكون أيونات موجبة الشحنة ، وتتحرك الأيونات الموجبة للأمام نتيجة للتنافر مع الشحنات الموجبة الموجودة على لوحة مشحونة إليتروستاتيكيا خلف الأيونات وتسمى هذه اللوحة " الطارد repeller " وبتحرك الأيونات فإنها تتعرض لفرق جهد عالى مما يزيد من سرعتها اوتعجيلها ، ثم يتم تركيز هذه الأيونات فى صورة حزمة صغيرة تدخل إلى وحدة فصل الأيونات. انظر شكل (٤-٥).



شكل (٤-٥) رسم تخطيطى لغرفة التأين لإنتاج أيونات بالتصادم الأليكترونى

وجهد التأين ionization potential لمعظم المركبات العضوية حوالى 10 e.v.
وهذه الطاقة تكفى فقط لإنتاج أيون جزيئ واحد Single charged molecular ion اى تعطى peak واحد فقط يقابل الوزن الجزيئى للمركب M^+ دون حدوث اى تكسير فى الجزىء الأصلى ولكن بزيادة قيمة فرق الجهد 50-70 e.v. فإنه يتكون العديد من الشظايا أو نواتج تحطم وتكسير ثابتة عند تكرار هذه العملية وبذلك ينتج عندنا طيف للمركب يمكن تكراره عند استخدام نفس الظروف reproducible spectra

وعندما تتعرض الجزيئات لهذه الطاقة المرتفعة فإنها تفقد أليكترونات ـ غالباً تفقد أليكترون واحد one electron ـ ويتكون أيون جزيئى موجب الشحنة positive charged molecular ion

ميكانيكية تكسير الأيونات الجزيئية:

من المعروف أن إحتمال تكسير رابطة كيميائية فى الأيون الجزيئى يتوقف على قوة الرابطة وطاقة التنشيط ودرجة ثبات الوحدات المتكونة من عملية التكسير سواء كانت وحدات مشحونة أو غير مشحونة ، فإذا رمزنا للأيون الجزيئى بالرمز $(AB)^+$ حيث يتكون من مجموعتين كيميائيتين هما A وB يرتبطان برابطة كيميائية ، فإن الإحتمالات المختلفة لتكسير هذا الأيون الجزيئى هى:

١- تكسير بسيط يتكون عنه أيون موجب وشق حر free radical

$$(AB)^{+\cdot} \longrightarrow A^+ + B^\cdot$$
$$\longrightarrow B^+ + A^\cdot$$

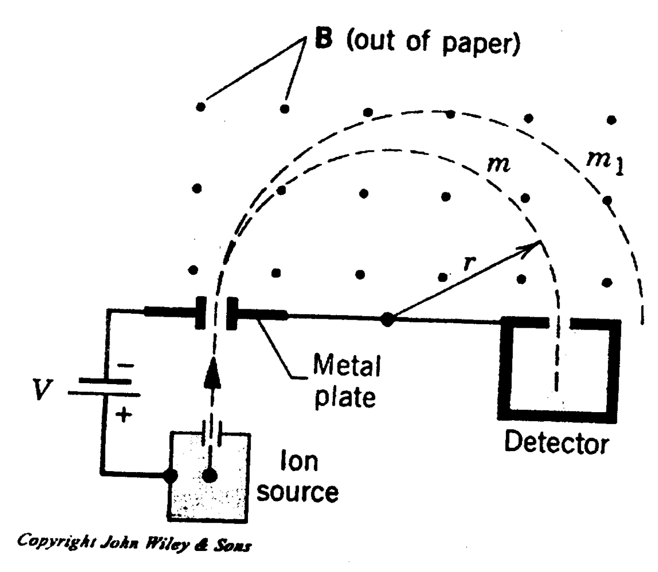
٢-تكسير يؤدى إلى تكوين جزئى متعادل وشق حر كاتيونى radical ion

$$(AB)^{+\cdot} \longrightarrow A^{+\cdot} + B$$
$$\longrightarrow B^{+\cdot} + A$$

ويلاحظ أن الشق الحر أو الجزىء المتعادل لا يتم تسجيلهما فى طيف الكتلة حيث إنهما جزيئات متعادلة.

ومن الملاحظ أنه بالإضافة إلى تكوين الأيونات الجزيئية الموجبة نتيجة لفقد الأليكترونات من هذه الجزيئات ، فإنه يتكون بعض الأيونات السالبة نتيجة لإتحاد الجزيئات المتعادلة مع الإليكترونات، ولكن هذه الأيونات السالبة يتم إمتصاصها على لوحة معدنية كما هو موضح فى الرسم (شكل ٥-٥)

ومن عيوب هذه الطريقة أن تكوين الأيونات بواسطة التصادم الأليكترونى غير مناسب للجزيئات عديمة الثبات unstable molecule حيث يؤدى ذلك إلى تكسير الأيونات الجزيئية إلى أيونات أصغر. وقد يحدث إختفاء للأيون الجزيئى molecular ion كلية فى بعض المركبات. أيضا هذه الطريقة تتطلب أن تكون العينة فى الحالة البخارية، كما أن وجود كمية قليلة من الغازات نتيجة لعدم التفريغ الكامل يؤدى إلى تأينها وظهورها فى طيف الكتلة.



شكل (٥-٥) امتصاص الأيونات السالبة على لوحة معدنية

٢-التأين الكيميائى Chemical ionization (CI)

وتعتمد هذه الطريقة على إستخدام غاز الميثان بتركيز عالى وهنا يحدث تأين لغاز الميثان نفسه عند دخوله مع العينة إلى غرفة التأين نتيجة لتعرضه لحزمة الأليكترونات ثم تقوم أيونات الميثان بعد ذلك بالتفاعل مع جزيئات المادة. وهنا يكون الدور الذى يلعبه غاز الميثان هو تقليل طاقة الجزيئات حيث أن التفاعل بين الجزيئات وايونات الميثان ينتج عنه أيونات طاقتها أقل من طاقة التأين المباشر للجزيئات بواسطة حزمة الأليكترونات وبذلك فإن طاقة الأيونات الجزيئية تكون منخفضة وتكون أقل تعرضاً لعملية التكسير ولذلك تعتبر هذه الطريقة مناسبة فى حالة الجزيئات غير الثابتة والتى يحدث للأيون الجزيئى الناتج منها تكسير كبير بإستخدام طرق التأين الأخرى.

وتتم عملية التأين الكيميائى على الخطوات التالية:

$$CH_4 \longrightarrow CH_4^+,\ \ CH_3^+,\ {}^+CH_2,\ {}^+CH,\ {}^+C,\ {}^+H_2,\ H^+,\ 2e$$

وهذه الأيونات تتفاعل مع بقية جزيئات الميثان التى لم تتأين كالأتى:

$$CH_4 + CH_4^+ \longrightarrow CH_5^+ \quad , \quad CH_3^{\cdot}$$

$$CH_4 + CH_3^+ \longrightarrow C_2H_5^+ \quad , \quad H_2$$

وتتفاعل هذه الأيونات بدورها مع جزيئات العينة RH كالأتى:-

$$RH + CH_5^+ \longrightarrow RH_2^+ + CH_4$$

$$RH + C_2H_5^+ \longrightarrow RH_2^+ + C_2H_4$$

ويتكون بذلك RH_2^+ والتى قد تفقد الهيدروجين H_2 كالأتى:

$$RH_2^+ - H_2 \longrightarrow R^+$$

ولكن فى معظم الأحيان يظهر الأيون RH_2^+ والذى تكون كتلته أكبر من كتلة الأيون الجزيئى بواحد وبذلك يمكن معرفة كتلة الأيون الجزيئى RH^+

٣-التأين بواسطة مجال كهربى (FI) Field Ionization

وتعتمد هذه الطريقة على وجود سطح معدنى فى مجال كهربى عالى (10^8 volt/cm^2) وعند إقتراب الجزيئات - المندفعة إلى حجرة التأين - من هذا السطح المعدنى تنسحب الأليكترونات من تلك الجزيئات إلى القطب الموجب مؤدية إلى تكوين أيونات جزيئية موجبة.

وتتميز هذه الطريقة بحدوث عدد قليل جداً من التكسير ، وقد لا يحدث تكسير على الإطلاق وبهذه الطريقة يمكن تقدير الوزن الجزيئى والرمز الجزيئى للمركبات.

وتوجد طرق اخرى لعملية التأين غير هذه الثلاثة السابقة مثل: إستخدام الأشعة فوق البنفسجية UV وأشعة الليزر laser microprobe وغيرها..

وفى النهاية بعد عملية التأين فإن الناتج من وعاء التأين عبارة عن أيونات موجبة فى صورة مخلوط مع الأيون الجزيئى بالإضافة إلى بعض الأيونات الناتجة من تكسير الأيون الجزيئى وكذلك الأيونات الناتجة عن وجود بعض النظائر فى تركيب الجزيئات وكل هذه الأيونات تختلف عن بعضها فى نسبة الكتلة إلى الشحنة m/e ولذلك يتم فصلها فى وحدة فصل الأيونات بناء على هذه الخاصية.

وحدة فصل أو فرز الأيونات Ion analyzer or separator

وهنا يتم فصل مخلوط الأيونات الناتجة من عملية التأين على أساس الاختلاف في نسبة m/e حتى يمكن رصد وتسجيل هذه الأيونات كل على حدة ويجب أن تكون عملية فصل الأيونات على درجة عالية من الدقة والتمييز وخاصة فى حالة الكتل المتقاربة جداً.

ويعتبر جهاز مطياف الكتلة له قدرة فصل وتمييز عالية high resolution instrument اذا استطاع الفصل بين الكتل التالية:

$C_{16}H_{22}O_2$, MW (246.1620) & $C_{17}H_{26}O$, MW (246.1984)
or between: CH mass (13.0078) & ^{13}C mass (13.0034).

وبذلك تعتبر القدرة العالية على التمييز high resolution مطلب هام وضرورى فى وحدة فصل الأيونات ion analyzer ويمكن التعبير عن كفاءة فصل الأيونات للجهاز وهى قدرته فى تمييز الكتل المتقاربة بالمعادلة:

$$R = M_1 \; / \; (M_2 - M_1)$$

حيث: R تعبر عن كفاءة الفصل للجهاز resolution ، M_1, M_2 كتلة الأيونات المتجاورة.

اما المطلب الثانى والهام أيضا فى الـ ion analyzer هو الإنتقال السريع للأيونات او زيادة التيار الأيونى اللازم للتسجيل High transmission of ions وهنا يبدو التعارض بين القدرة على الفرز resolution وشدة التيار الأيونى لأنه بتصغير فتحة دخول وخروج الأيونات يزداد الفرز ولكن يقل التيار الأيونى اللازم للتسجيل والعكس صحيح ومن هنا نجد ان الأجهزة المختلفة تتباين فى طريقة التكييف بين هذين المطلبين.

طرق فصل الأيونات:

وتوجد عدة انظمة مختلفة فى فصل الأيونات هى:

١. انحراف الأيونات في مجال مغناطيسي

Single focusing magnetic analyzer (low resolution)

وهنا يتم الفصل بإستخدام مجال مغناطيسى قوى ليعمل على إنحراف الأيونات الموجبة بدرجات متفاوتة اثناء مرورها فى أنبوبة التحليل analyzer ويتوقف مقدار الإنحراف deflection على نسبة m/e حيث تنحرف الأيونات الكبيرة الوزن بدرجة أقل من الأيونات الخفيفة على حسب المعادلة التالية:

$$m/e = H^2 \, r^2 / 2\,V$$

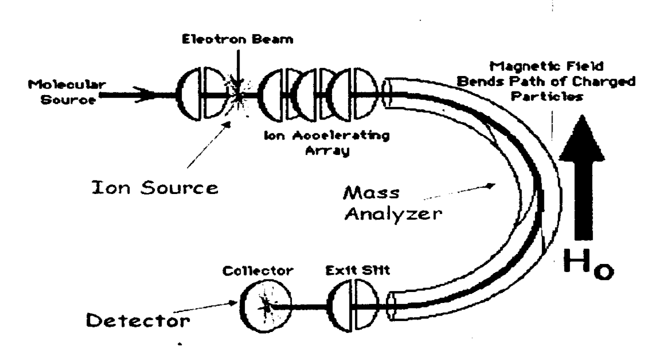
حيث H شدة المجال المغناطيسي، R قطر المسار الدائري الذي تسير فيه الأيونات، V جهد التعجيل كما هو موضح بشكل (٥-٦)

وعند ثبات الجهد V وشدة المجال المغناطيسى H فإن الأيونات المختلفة فى قيمة (m/e) تأخذ مساراً دائرياً يختلف فى قيمة r وعلى ذلك فإن الأيونات التى يكون مسارها الدائرى مطابقاً مع أنبوبة التحليل تصل إلى وحدة القياس ، أما الأيونات الأخرى فيكون

مسارها مخالفاً لمسار انبوبة التحليل وتصطدم بجدار أنبوبة التحليل فتتعادل حيث يتم سحبها من وحدة تحليل الأيونات وعلى ذلك فإن المجال المغناطيسى يقوم بعزل الأيونات إلى حزم تختلف كل منها فى قيمة m/e

وللحصول على طيف الكتلة يغير الجهد V بمعدل ثابت وعلى ذلك فإن الأيونات تصل إلى وحدة التسجيل بالتتابع، تبدأ بالأيونات ذات الكتل الصغيرة وتنتهى بالكتل الكبيرة.

ويلاحظ أن إستخدام المجال المغناطيسى فى فصل الأيونات يتيح فصل الأيونات التى تختلف عن بعضها بمقدار الوحدة Unit resolution أى أنه يمكن فصل الأيونات التى كتلتها ٢٠٠ من الأيونات التى كتلتها ١٩٩ والأيونات التى كتلتها ٢٠١ وتعتبر الأجهزة التى تستخدم المجال المغناطيسى بمفرده فى فصل الأيونات أجهزة ذات قدرة فصل منخفضة low resolution ويمكن إستخدام هذا النوع من الأجهزة فى فصل المركبات التى كتلتها فى المدى من ٢٠٠ - ٦٠٠ وحدة من وحدات الوزن الجزيئى.



شكل (٥-٦): انحراف الأيونات فى مجال مغناطيسى

Single Focusing mass spectrometer

٢. فصل الأيونات باستخدام التركيز البؤري المزدوج Double focusing analyzer

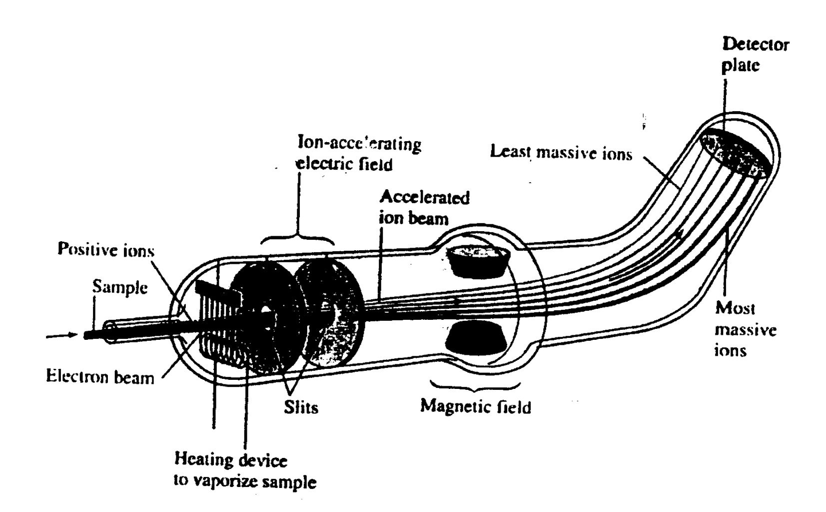
وهنا يستخدم مجال كهربى ومجال مغناطيسى فى عملية فصل الأيونات، ويعتمد المجال الكهربى على أن الأيونات بعد خروجها من عملية التصادم مع حزمة الأليكترونات electron beam فإنها تخرج بطاقات حركية مختلفة من غرفة التأين variable kinetic energy وبالتالى فإن سرعة هذه الأيونات غير متكافئة أى سرعات مختلفة لإختلاف طاقتها الإبتدائية، وعلى ذلك يقوم المجال الكهربى بفصل تلك الأيونات بناء على طاقتها حيث يتم فصل الأيونات التى تختلف فى طاقتها إلى حزم قبل فصلها بواسطة المجال المغناطيسى ، بينما يقوم المجال المغناطيسى بعد ذلك بفصل الأيونات ذات الطاقة المتساوية بناء على نسبة الكتلة إلى الشحنة m/e أى أننا هنا نستخدم المجال الكهربى كوسيلة لتقليل تلك الفوارق الطاقية قبل وصولها إلى المجال المغناطيسى ولذلك فإن الفصل هنا يتم على أساس تركيز السرعة والإتجاه بينما الأجهزة التى تستخدم مجال مغناطيسى فقط يتم فيها فصل الأيونات بواسطة الإتجاه فقط.

وهنا نجد فى أجهزة مطياف الكتلة التى تعتمد على فصل الأيونات بالتركيز البؤرى المزدوج Double focusing أن لها القدرة على تجميع وتمييز الأيونات المتساوية فى السرعة أو الطاقة الحركية ، ولقد أعطى ذلك الفرصة لإستخدام تيار أيونى ضعيف نسبيا مع قدرة أكبر على الفرز. كما هو موضح بشكل (٥-٧)

والأيونات الخارجة من مصدر الأيونات أى من غرفة التأين تمر أولاً على مجال كهربى electric field من الفتحة الأولى حيث يتم عمل تركيز focusing للأيونات التى لها طاقة حركية متساوية عند الفتحة الثانية والتى تعمل فى هذه الحالة كنقطة بداية لفصل الأيونات المتساوية فى الطاقة بمرورها على مجال مغناطيسى بناء على m/e وبذلك يحدث التركيز الزدوج double focusing

٣. فصل الأيونات بالتركيز البؤري الدائري Cycloidal focusing analyzer

وهنا أيضاً يستخدم مجال كهربى مع مجال مغناطيسى لفصل الأيونات ولكن هنا يكون المجال الكهربى عمودى على المجال المغناطيسى وبذلك تتعرض الأيونات إلى كل من المجال الكهربى والمغناطيسى فى نفس الوقت مما يجعل الأيونات تأخذ مساراً دائرياً.



شكل (٥-٧) فصل الأيونات باستخدام التركيز البؤرى المزدوج

Double Focusing mass spectrometer

والأيونات التى لها نفس قيمة m/e ولكنها خارجة من وحدة التأين بطاقات حركية مختلفة سوف تأخذ مسارات دائرية مختلفة ، ولكنها ستصل جميعها إلى وحدة القياس وبتغيير شدة المجال الكهربى أو المغناطيسى فإن الأيونات تصل إلى وحدة القياس تباعاً بناء على نسبة m/e

٤. فصل الأيونات على أساس اختلاف سرعتها Time of flight system (TOF)

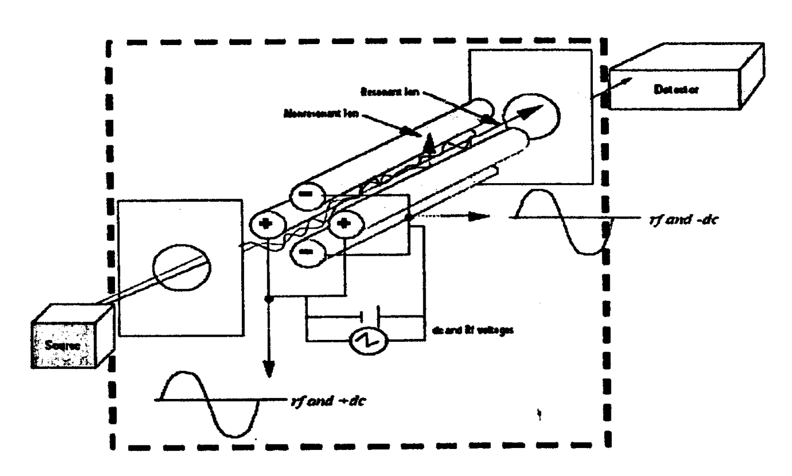
يعتمد الفصل بهذه الطريقة على ان الأيونات التي تختلف في كتلتها ولها نفس طاقة الحركة سوف تختلف في سرعتها وعلى ذلك سوف تتمايز الأيونات التي تختلف في كتلتها في الوقت الذي تستغرقه من وحدة التأين الى وحدة القياس.

وهنا يتم قذف الجزيئات بنبضات قصيرة short pulses من الأليكترونات لفترة تصل الى ميكروثانية والأيونات الناتجة تسير بسرعة تعجيلية بواسطة مجال كهربي موجود بين فتحتين تعجيل.

٥. فصل الأيونات باستخدام المجال الناتج عن أربعة اقطاب كهربية

Quadrupole Analyzer system

يتكون المجال الكهربي الرباعي من أربعة أقطاب موضوعة بطريقة متماثلة حول مماس دائرة ثم يوصل كل زوج من هذه الأقطاب عن طريق تلامس أسطحها ويوصل كل زوج بجهد متساوي في الشدة ومضاد في الاتجاه وبذلك يكون الجهد في هذه المنطقة متذبذب ، وعندما تسير الأيونات في خط موازي للأقطاب يحدث لها تذبذب oscillation بين الأقطاب بدرجة تتوقف على نسبة الكتلة الى الشحنة. بعض الأيونات تمر بدون الاصطدام بأحد الأقطاب والبعض الآخر يكون له حركة تذبذبية غير مستقرة وتصطدم بأحد الأقطاب. كما هو موضح بشكل (٥-٨).



شكل (٥-٨) فصل الأيونات باستخدام المجال الناتج عن أربعة اقطاب كهربية

Quadruple mass spectrometer

وحدة جمع الأيونات وقياسها Ion collector & Detector

تخرج الأيونات بالتتابع حسب نسبة m/e من وحدة الفصل ion analyzer من فتحة صغيرة إلى وحدة الكشف والقياس حيث يمكن تسجيلها.

طرق القياس: إستقبال الأيونات على سطح معزول (قفص فارادای Faraday cage) فمجرد أن يصطدم الأيون الموجب بجامع الأيونات فإنه يلتقط أحد الأليكترونات ويتكون نتيجة ذلك تيار اليكترونى صغير فى إتجاة الجامع collector وهذا التيار يكون فى حدود $١٠^{٥}$: $١٠^{١١}$ أسبير ويمكن تكبيره بواسطة تأثير المجال فى الترانزستور Field-effect transistor، اما إذا كان التيار أقل من $١٠^{١٥}$ امبير تستخدم خلايا ضوئية للتكبير الأليكترونى electron multiplier phototube وإستخدام وحدة القياس بالتكبير الأليكترونى تسمح بعملية تسجيل سريع للأيونات وذلك لأنه يمكن خفض ثابت الوقت إلى درجة مناسبة. ونتائج التحليل تعرض فى صورة تسجيل كتابى بواسطة Oscillograph (راسم الذبذبات) بإستخدام عدد من ٣-٥ جلفانومتر تختلف فى درجة حساسيتها.

او يمكن إستخدام لوحة فوتوغرافية photographic plate وهى تعطى درجة فصل مناسبة أكبر من وحدات القياس الأليكترونية وهى من أكثر أجهزة القياس حساسية فيمكن بها الكشف عن كميات صغيرة من المواد ، وكذلك الأيونات غير الثابتة التى تكون فترة حياتها صغيرة جداً والتى قد يكون من غير الممكن الكشف عنها بوسائل الكشف الأليكترونية.

نظام التفريغ Vacuum system

يحتاج جهاز مطياف الكتلة إلى نظام تفريغ جيد لإتمام عملية التأين تحت ضغط منخفض حتى لا يحدث تعادل للأيونات الناتجة بواسطة التصادم.

وتتم عملية التفريغ بالتدريج داخل الجهاز ، فبينما نجد أن نظام إدخال العينات inlet system يكون على ضغط 10^{-2} torr ، يكون مصدر الأيونات ion sonrce عند 10^{-5} torr بينما يكون وحدة فصل الأيونات analyzer tube على 10^{-7} torr أو أقل من ذلك، وعادة تستخدم مضخات الأنتشار الزيتى.

ويمكن إستخدام المضخات الأيونية ion pump أو المضخات بالتبريد cryogenic pump system اذا كان المطلوب تفريغ أكثر.

طيف الكتلة Mass Spectrum

يتم عرض طيف الكتلة فى صورة رسم بيانى يوضح العلاقة بين m/e للأيونات على الأحداثى الأفقى وتركيز هذه الأيونات of base peak % على الأحداثى الرأسى.

وعملية التأين تشمل تكوين الأيون الجزيئي والأيونات الناتجة من تكسيره، والأيونات الناتجة عن تحويره ثم تكسيره ، كما أن تصادم الأيونات الجزيئية قد يؤدي الى تكوين أيون كتلته اكبر من كتلة الأيون الجزيئي.

ويمكن ايجاز أنواع تلك الأيونات فيما يلي؛

الأيون الجزيئى molecular ion (parent ion)

وهو الأيون الذى ينتج من فقد إليكترون واحد من الجزىء (M^+) أو يكتب M وهذا الأيون له كتلة مماثلة للوزن الجزيئي للمركب وعلى ذلك فان تمييز هذا الأيون يعتبر هام في تحديد الوزن الجزيئي للمركب وكذلك الرمز الجزيئي.

ويعتمد تركيز هذا الأيون على درجة ثباته والتي تتوقف بدورها على تركيبه. فيحتاج الأيون الجزيئي الى فترة زمنية حوالي 10^{-5} secend لكي يصل الى وحدة القياس دون تكسير.

وثبات الأيون الجزيئي يزداد فى حالة الجزيئات المحتوية على روابط π والتى يسهل فيها فقد الأليكترون بالمقارنة برابطة σ ، كما أن كسر رابطة π لا يؤدى إلى إنقسام الجزىء بل يظل الجزيئى كما هو بنفس وزنه ويعطى الأيون الجزيئى molecular ion أو يسمى الـ parent peak ويختلف تركيز أو إرتفاع هذا الأيون الجزيئى [M^+] من مركب لآخر حيث يتوقف تركيزه على درجة ثباته ، ففى حالة ما يكون على درجة مناسبة من الثبات يكون تركيزه مرتفعاً وقد يمثل أعلى تركيز بين الأيونات جميعها فى طيف الكتلة mass spectrum بينما ينخفض تركيزه فى المركبات غير الثابتة ، وفى بعض المركبات قد لا يظهر على الإطلاق نتيجة لتكسيره إلى أيونات أصغر مثال ذلك مركب رابع كلوريد الكربون CCl_4 لا يظهر له parent peak

وبصفة عامة الارتفاع النسبي لـ parent peak يقل بالترتيب التالي:

Aromatics > conjugated olefins > alicylics > sulfides > unbranched hydrocarbons > ketones > amines > esters > ethers > carboxylic acids > branched hydrocarbons & alcohols.

الأيونات الناتجة عن تكسير الأيون الجزيئي (الشظايا) Fragments

اذا كانت فترة حياة الأيون الجزيئي أقل من 10^{-5} secend يحدث له تكسير وتتكون أيونات أصغر fragment ions ويتوقف تركيب الأيونات الصغيرة على موضع انفصال الروابط في الجزيء وعلى درجة ثبات هذه الأيونات.

الأيون القاعدي أو الأساسي Base peak :

هو الأيون الذى يعطى أعلى تركيز بين الأيونات فى طيف الكتلة ، ولذلك تنسب إليه تركيزات أو إرتفاعات باقى الأيونات كنسبة مئوية من هذا الأيون (abundancy) وقد يكون الأيون الأساسى هو الأيون الجزيئى أو أحد الأيونات الناتجة عن تكسيره.

الأيونات الناتجة عن وجود النظائر Isotopic peaks

فى المركبات العضوية توجد وفرة طبيعية natural abundance من النظائر الطبيعية isotopes مثل ^{13}C , ^{2}H , ^{37}Cl , ^{14}C وغيرها وهذه النظائر توجد بنسب معروفة فى الطبيعة، ولذلك تظهر عدة أيونات كتلتها أكبر من كتلة الأيون الجزيئى. فإذا كان موجود نظيران لعنصر فى نفس الجزىء مثل ^{13}C , ^{14}C فإنه يظهر [M+1] ، [M+2] بجوار الأيون الجزيئى [M] ويشذ عن ذلك عنصرى الكلور والبروم فنجد أن قمة الـ peak الناتجة عن النظير [M+2] الخاص بكل منها عالية وإشارتها قوية وذلك يرجع إلى نسبة توفر هذه النظائر فى الجزىء high abundancy وتسمى isotopic peaks

^{35}Cl , 75.8 %	[M^{+}]	^{79}Br , 50.5 %	[M^{+}]
^{37}Cl 24.2 %	[M+2]	^{81}Br , 49.5 %	[M+2]

الأيون شبه المستقر Meta stable ion (m^{*}) : فى بعض المركبات قد يظهر أيون ظاهرى أو مؤقت الأستقرار أو ما نسميه شبه المستقر وهو يختلف فى سلوكه عن الأيونات الأخرى. وهذا الأيون ينتج عن تكسير الأيون الجزيئى فى المنطقة بين حجرة التأين ووحدة الفصل وليس فى حجرة التأين كباقى الأيونات وبذلك يتكون أيون أصغر وجزىء متعادل.

$$M^+ \longrightarrow m^+ + m_1$$

وتكون الطاقة الحركية لهذا الأيون أقل من طاقة الأيونات التى تتكون فى حجرة التأين وعلى ذلك فإنها تسلك سلوكاً مخالفاً لهذه الأيونات وتظهر فى وحدة التسجيل فى صورة خط ضعيف مفلطح broad peaks وغالباً ما تكون كتلته ليست رقماً صحيحاً ، وظهور مثل هذا الأيون الشبه مستقر يفيد فى دراسة ميكانيكية التكسير للأيون الجزيئى حيث أن كتلة الأيون الشبة مستقر يمكن حسابها من المعادلة:

$$m^* = (m^+)^2 \;/\; M^+$$

حيث m^* كتلة الأيون شبة المستقر المتوقعة

m^+ كتلة الأيون الناتج من تكسير الأيون الجزيئى.

M^+ كتلة الأيون الجزيئى

ومن امثلة ذلك نجد أنه فى طيف الكتلة لمركب acetophenon يظهر أيون شبه مستقر عند $m/e = 91.88$ ، ويمكن تفسير ذلك على النحو التالي:

عندما يفقد مركب Acetophenon $Ar\text{-}C(O)\text{-}CH_3$ أليكترون يتحول إلى أيون جزيئى والذى يحدث له إنقسام بعد ذلك ويعطى أيون شبه مستقر.

$$[M]^+ \longrightarrow m^+ + m_1$$

$$\underset{m/e = 120}{[Ar\text{-}C(O)\text{-}CH_3]^{+\cdot}} \longrightarrow \underset{m/e = 105}{[Ar\text{-}C(O)]^+} + CH_3$$

$$m^* = (105)^2 \;/\; 120 = 91.88$$

الأيون الناتج عن التصادمات Peaks for collision products

ويلاحظ فى بعض أطياف الكتلة ظهور أيون كتلته اكبر من $[M^+]$ وكذلك تركيزه مرتفعا وقد يزيد حتى عن إرتفاع $[M^+]$ ولا يرجع هذا الأيون إلى وجود النظائر ولكنه يكون نتيجة لعملية التصادم بين الجزيئات أو الأيونات مع إنتقال أحد المجموعات الكيميائية للأيون الجزيئى.

وعموما يحتاج الأيون الجزيئى إلى فترة زمنية قدرها حوالى 10^{-5} من الثانية لكى يصل إلى وحدة القياس دون تكسير، أما إذا كانت فترة حياة الأيون الجزيئى أقل من 10^{-5} من الثانية فيحدث له تكسير وتتكون أيونات أصغر.

الأيونات متعددة الشحنات Multiple charged ions

هناك إحتمال لتكوين أيونات تحمل شحنتين او أكثر M^{++} ولكن غالبا ما يكون هذا الإحتمال ضئيلاً وعند ظهور هذه الأيونات فى طيف الكتلة يكون تركيزها صغير جداً.

ميكانيكية تكوين الأيونات:

تحتاج عملية التأين وتكوين M^+ إلى حزمة من الأليكترونات ذات طاقة فى حدود 8-15 e.v. وذلك لمعظم المركبات العضوية. وهذه الكمية من الطاقة تمثل الحد الأدنى من الطاقة اللازمة لعملية التأين.

والأيون الجزيئى هو عبارة عن شق حر كاتيونى radical cation $M^{+\cdot}$ ويحتوى على رابطة بما إليكترون واحد non-bonding من ذرة غير كربونية مثل Cl, S, N, O وعادة تستخدم طاقة فى حدود 50-70 e.v. وذلك لضمان تكوين الأيون الجزيئى بكمية كافية يمكن الكشف عنها فى وحدة القياس ولكن ذلك يؤدى أيضا إلى تكسير بعض الروابط فى الأيون الجزيئى وتكوين أيونات أصغر فى الكتلة ، كما قد يحدث أيضا تحوير وإعادة ترتيب فى الأيون الجزيئى نتيجة هذه الطاقة العالية، كما أن تصادم الأيونات الجزيئية قد يؤدى إلى تكوين أيون كتلته أكبر من كتلة الأيون الجزيئى.

وكما ذكرنا فإن الوفرة النسبية للأيونات الناتجة عن التكسير تعتمد على قوة الروابط الكيماوية فى الجزىء وكذلك شكل الجزىء هل هو سلسلى أم مثل البروبان مثلاً أم متفرع مثل ايزوبروبان أم حلقى مثل البنزين أو الهكسان الحلقى.

والتكسير يفضل عند ذرات الكربون الأكثر تفرعا على أساس أن أيون الكربونيوم Carboniumion الناتج عنها يكون أكثر ثباتا

$$\text{Tertiary } C^+ > \text{secondary } C^+ > \text{primary } C^+$$

.زداد التحطم بزيادة إحتمال تولد جزيئات ثابته مثال:

CO, CO_2, H_2O, NH_3, H_2S, HCN

أيونات الناتجة عن اعادة التنظيم Rearrangement ions

أحيانا نلاحظ تكون أيونات لاتعتبر جزءا من الجزيء الأساسي ولكنها تنتج عن ملية اعادة التنظيم داخل الأيونات.

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}X^{\cdot} \longrightarrow CH_3\text{-}CH_2^{+} + X^{\cdot}$$

$$\downarrow$$

$$CH_2{=}CH_2^{\cdot} + HX$$

طرق وأنماط التكسير في الأقسام المختلفة من المركبات :

الهيدروكربونات المشبعة Alkanes

تعطى الألكانات غير المتفرعة أيون جزيئى واضحا وينخفض تركيز M^+ بزيادة رجة التشعب او بزيادة طول السلسلة ، وتظهر أيونات تعبر عن فقد مجموعة مثيل أو ثيل من الأيون الجزيئي مثل أيونات (M-29) أو (M-15)

الهيدروكربونات غير المشبعة Alkenes

تشبه الألكانات إلى حد كبير ويحدث فقد لمجموعة CH_3 أو مجموعة ethylene

المركبات الهالوجينية Halogen compounds (RX)

فى هذه المركبات يحدث تكسير للأيون الجزيئى ($RX^{+\cdot}$) بفقد الهالوجين (X) وبذلك يتكون أيون كتلته مساوية (M-X)

الكحولات والفينولات Alcohols & Phenols

تتميز بأن M^+ يكون تركيزه منخفض جدا ويظهر فيها أيون تركيزه مرتفع عند (M-18) نتيجة لفقد جزىء من الماء ، كما أن الكحولات المتفرعة غالبا ما تعطى -M) 15) نتيجة لفقد مجموعة CH_3 -

٥-الأيثرات Ethers

يحدث تكسير فى احدى الرابطتين على جانبى ذرة الأكسجين وعلى ذلك يلاحظ دائما أيون يمثل إحدى مجموعتى الألكيل او كليهما فى الأيثرات.

٦-الألدهيدات Aldehydes

تتميز بظهور أيون كتلته (M-1) نتيجة لفقد ذرة هيدروجين وكذلك ايون M-29

$$R\text{-}CH_2\text{-}C(O)\text{-}H \longrightarrow R\text{-}CH_2\text{-}C(O)^+ + H$$

(M-1)

$$\downarrow$$

$$RCH_2^{\cdot} + H\text{-}C{=}O^{\cdot}$$

(M-29)

٧-الكيتونات Ketones

يحدث تكسير رئيسى على جانبى الكربونيل فى المركبات الكيتونية مثل مركب الأسيتون او مركب الأسيتوفينون acetophenone

٨- المركبات العطرية Aromatic compounds

يلاحظ فى هذه المركبات ان الأيون الجزيئى يكون تركيزه مرتفعاً وبذلك يمكن تمييزه بسهولة ويرجع ذلك إلى درجة الثبات الكبيرة للأيون الجزيئى الناتج عن الحلقات العطرية. وتتوقف طريقة التكسير فى المركبات العطرية على طبيعة وعدد المجموعات الأستبدالية على الحلقة.

تقدير الوزن الجزيئي:

يعتبر مطياف الكتلة أدق طريقة لتقدير الوزن الجزيئي للمركبات العضوية بطريقة مباشرة ، ويمكن تقدير الوزن الجزيئي للمركبات التي قد يصل وزنها الى ١٠٠٠٠ وحدة وذلك باستخدام الأجهزة ذات قدرة الفصل العالية.

ويلاحظ انه في بعض المركبات يصعب التعرف على الوزن الجزيئي وذلك لما يأتي:

١- قد لا يظهر الوزن الجزيئى في طيف الكتلة لعدم ثباته بدرجة كبيرة او يظهر بتركيز منخفض جدا لدرجة يصعب تحديده وهنا يمكن زيادة تركيزه برفع حساسية الجهاز

وخفض طاقة الأليكترونات المستخدمة في التأين الى حوالي 15 electron volt، كما أن زيادة تركيز المادة يؤدي في كثير من الأحيان الى زيادة تركيز الأيون الجزيئي.

٢- قد يكون الأيون الجزيئي موجودا ولكن ضمن مجموعة من الأيونات التي يكون تركيزها مساويا او اكبر من الأيون الجزيئي. فقد يؤدي تصادم الأيونات الجزيئية التي تحتوي على ذرة غير كربونية (O,N, S) الى تكوين ايونات كتلتها (M+1) نتيجة لانتقال ذرة هيدروجين . وفي بعض الأحيان يكون تركيز هذا الأيون اكبر بكثير من الأيون الجزيئي.

$$RCH_2\text{-}O\text{-}CH_2R + RCH_2\text{-}O\text{-}CH_2R \Longrightarrow RCH_2\text{-}O(H)\text{-}CH_2R + RCH\text{-}O\text{-}CH_2R$$

وفي حالة عدم ظهور الأيون الجزيئي يستدل عليه من الأيونات الصغيرة فمثلا الكحولات تعطي أيون جزيئي تركيزه منخفض جدا ولكن في نفس الوقت يظهر أيون كتلته (M-18) نتيجة لفقد جزيئ ماء.

التحليل الطيف كتلي لبعض المبيدات الفوسفورية العضوية :

كما هو موضح فى أشكال الطيف الكتلى لمركبات

Parathion واحد مشتقاته (شكل ٥-٩)

Paraoxon واحد مشتقاته (شكل ٥-١٠)

Bromobutane (شكل ٥-١١)

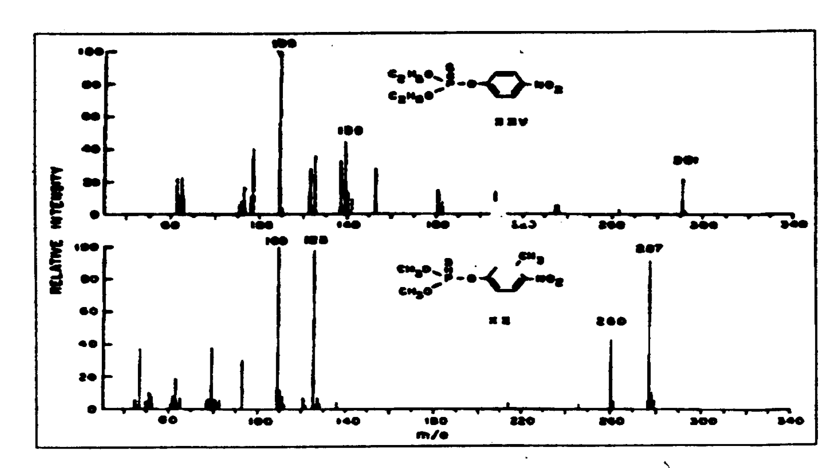
Butyl ethyl ketone (شكل ٥-١٢)

$Cl - CH_2 - CH_2$ - COOEt (شكل ٥-١٣)

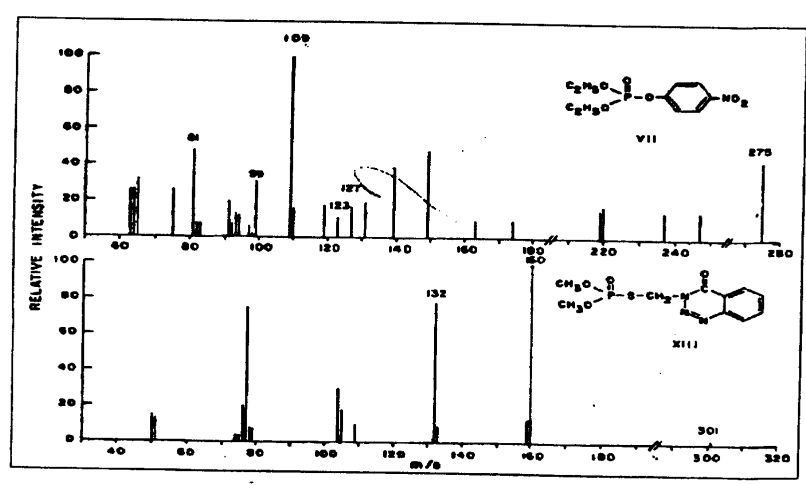
$CH_3 - CH_2\ CH(CH_3)$ - CHO (شكل ٥-١٤)

CH- COCH $(CH_2COOEt)_2$ (شكل ٥-١٥)

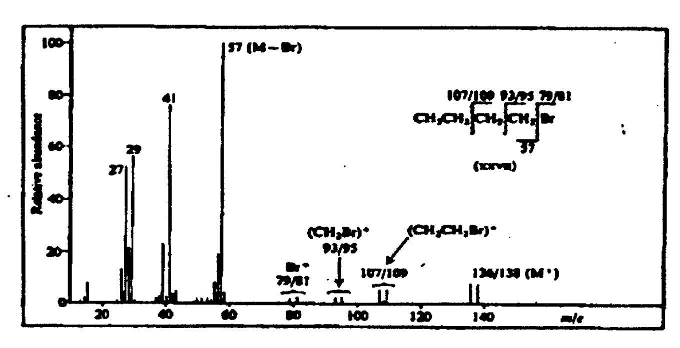
واخيرأ جزئ الماء (شكل ٥-١٦)



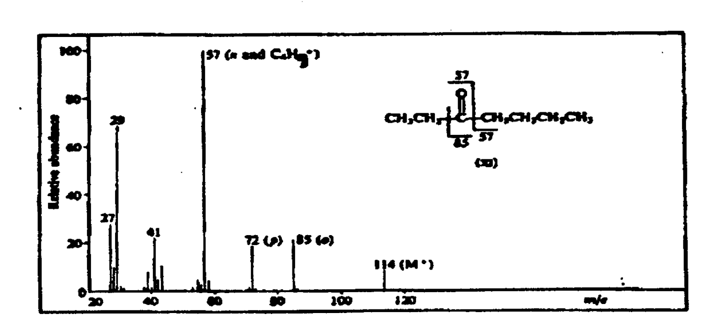
شكل (٥-٩) طيف الكتلة لمركب Parathion وأحد مشتقاته



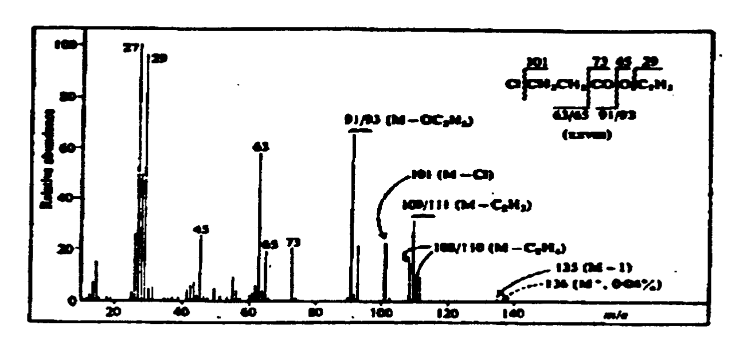
شكل (٥-١٠) طيف الكتلة لمركب Paraoxon وأحد مشتقاته



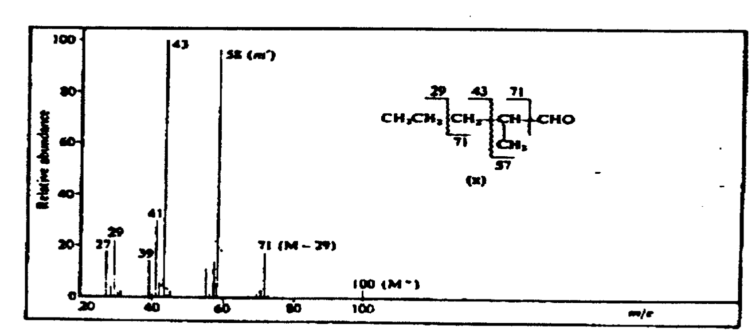
شكل (٥-١١) طيف الكتلة لمركب بروموبيوتان



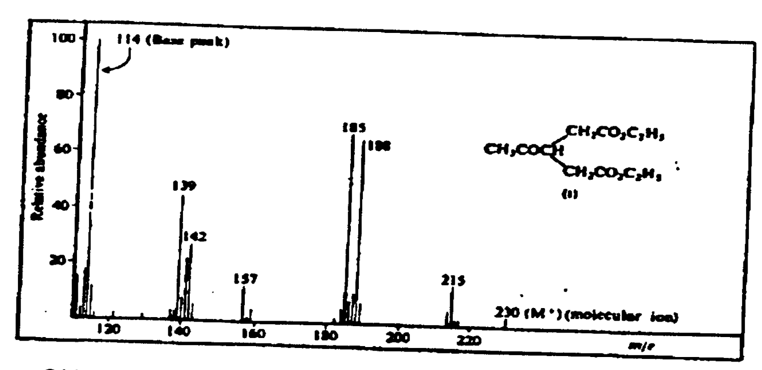
شكل (٥-١٢) طيف الكتلة لمركب بيوتايل ايثايل كيتون



شكل (٥-١٣) :طيف الكتلة لمركب $Cl-CH-CH_2-CH_2\,COO-Et$



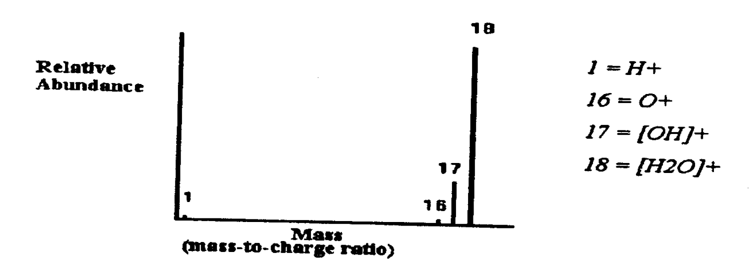
شكل (٥-١٤) :طيف الكتلة لمركب $CH_3-CH_2\text{-}\,CH_2\,CH\,(CH_3)-CHO$



شكل (٥-١٥) :طيف الكتلة لمركب $CH_3\ COCH(CH_2COOEt)_2$

Water Example

Mass Spectrum of Water



شكل (٥-١٦) :طيف الكتلة لجزئ الماء

الفصل السادس

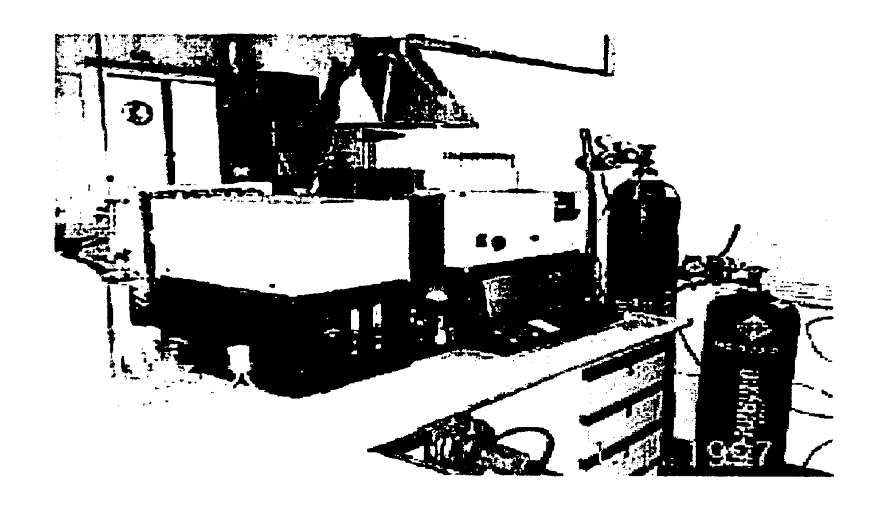
جهاز الامتصاص الذري للعناصر

Atomic Absorption Spectrometer (AAS)

مقدمة:

من المعروف انه في اجهزة التحليل الطيفي مثل جهاز قياس الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية أو جهاز الأشعة تحت الحمراء يتم الامتصاص على المستوى الجزيئي حيث يحدث انتقالات اليكترونية في الذرات داخل الجزيئات عند تعرض الجزيئات للأشعة المرئية أو فوق البنفسجية أو يحدث اهتزازات داخل الجزيئات تؤدي الى تمدد أو انكماش الروابط الكيماوية أو تغيير الزوايا بين الروابط المكونة للجزيئات عند تعرضها للأشعة تحت الحمراء ، بينما في حالة جهاز الامتصاص الذري للعناصر يتم الامتصاص على المستوى الذري فقط وليس على مستوى الجزيء ولذلك لابد من تحويل العنصر المطلوب قياسه في الجزيء الى الحالة الذرية.

يقوم جهاز الامتصاص الذري (شكل ٦-١) بتقدير العناصر في محاليلها كطريقة من طرق التحليل الطيفي spectroscopy وتعتمد فكرة التقدير على تحويل محلول العينة الى رزاز أى تعتمد على عملية atomization ثم خلط الرزاز مع مخلوط من الغازات مثل الأسيتيلين والهواء أو أكسيد النيتروز ويتم حرق العنصر بواسطة اللهب الناتج عن خلط هذه الغازات مع الهواء ويتحول العنصر الى الصورة الذرية والتي تتعرض الى لمبة كاثود Hollow cathode lamp خاصة بالعنصر المراد قياسه وتعطي لمبة الكاثود الخاصة بكل عنصر ضوء ذو تردد معين مشابه للطيف الذري للعنصر المطلوب قياسه فتمتص ذرات العنصر قدر من هذا الضوء يتناسب مع تركيزها في اللهب ، أي أنه كلما كان تركيز ذرات العنصر في اللهب عالي فانه يحدث امتصاص لقدر كبير من الطاقة ، وعن طريق مقارنة كمية الطاقة الممتصة بواسطة تركيزات معلومة من العنصر بكمية الطاقة الممتصة بواسطة العينات المجهولة التركيز لنفس العنصر يتم التقدير.



شكل (٦-١) جهاز الامتصاص الذرى للعناصر Atomic Absorption Spectroscopy

طرق تقدير الامتصاص الذري:

ويوجد أكثر من طريقة technique لتقدير الامتصاص الذري للعناصر وهي تختلف على حسب نوع العنصر المراد تقديره في العينة حيث أن بعض العناصر تحتاج على درجات حرارة عالية أثناء الحرق والبعض الآخر يحتاج إلى درجة حرارة أقل حتى نصل إلى ذرات مستقرة يمكن قياسها، كما أن هناك بعض العناصر لا تحتاج إلى لهب حيث أنها تتسامى مباشرة، ومن ناحية أخرى فإن تركيز العنصر المطلوب تقديره يحدد ايضاً طريقة التقدير فمثلاً يمكن استخدام الأفران الكهربية لتقدير التركيزات الضئيلة للعناصر وهكذا...

١. الامتصاص الذري للعناصر بطريقة اللهب

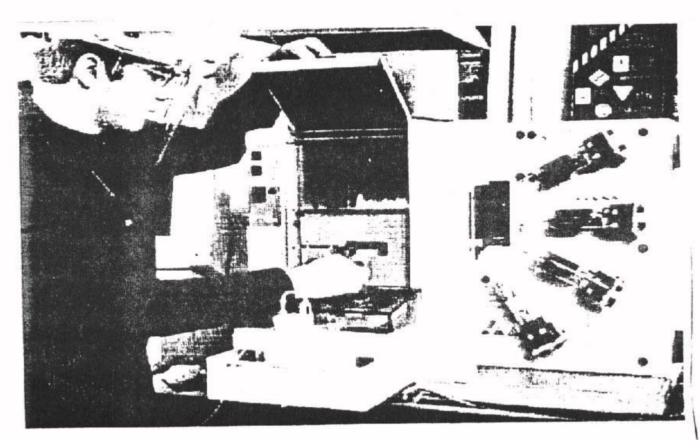
Flame Atomic Absorption (Direct Aspiration method)

وهنا يتم تحويل العنصر الى الحالة الذرية عن طريق اللهب كما هو موضح فى شكل (٦-٢) حيث يتم تسليط حزمة ضوئية من لمبة كاثود مصنوعة من نفس العنصر المراد تقديره خلال اللهب الى موحد الموجات ثم الى كشاف لقياس كمية الضوء الممتص بواسطة اللهب. والامتصاص يعتمد على وجود ذرات حرة في حالتها المستقرة في اللهب، ويتم تقدير العناصر بهذه الطريقة في حدود تركيزات بالجزء في المليون ppm

٢. الامتصاص الذري للعناصر بطرق أخرى غير اللهب

Flameless Atomic Absorption

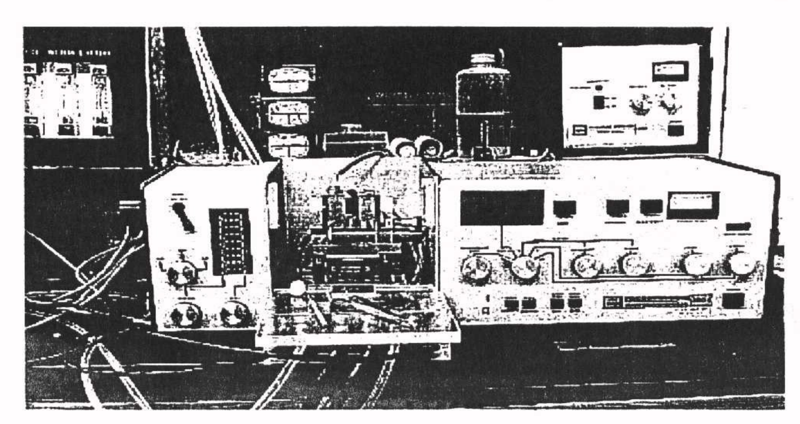
وهنا يتم تحويل العنصر الى الحالة الذرية بطرق أخرى غير اللهب مثل استخدام الأفران الكهربية أو الاعتماد على بعض التفاعلات الكيماوية مثل توليد هيدريدات الغازات المتطايرة volatile gaseous hydrides لبعض العناصر مثل الزرنيخ والسيلينيوم والأنتيمون والقصدير عن طريق اضافة مادة مختزلة أو على بعض الخصائص الكيمائية مثل ظاهرة التسامي لتقدير بعض العناصر مثل الزئبق والتي يتحول فيها العنصر الى بخار بدون تسخين سواء باللهب أو بالأفران الكهربية.



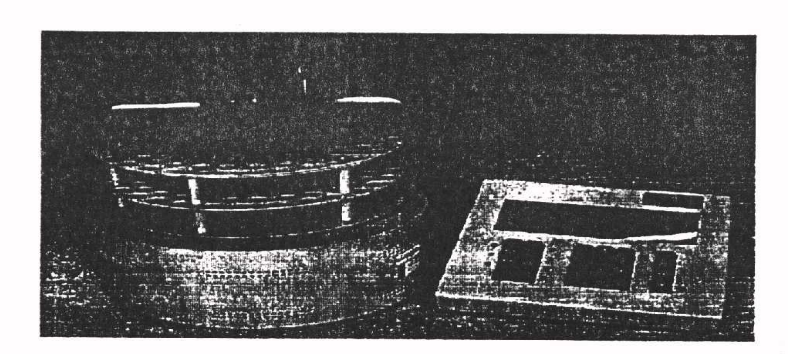
شكل (٦-٢) الامتصاص الذرى للعناصر بطريقة اللهب Flame AAS

طريقة الأفران الكهربية Graphite furnace method

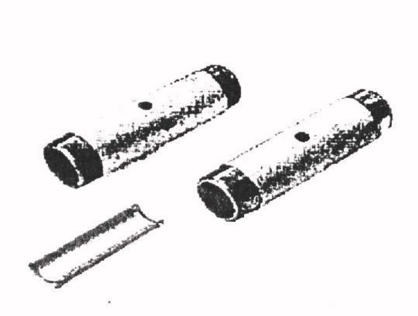
وهي طرق أكثر حساسية من استخدام اللهب حيث يصل فيها التقدير الى حدود تركيزات بالجزء في البليون ppb ،كما هو موضح (٦-٢) وهنا توضع العينات فى auto samper كما هو موضح فى شكل (٦-٤) ثم يتم سحب العينات داخل الفرن الكهربى إلى أنبوبة الجرافيت ويحدث للعينة electrothermal atomization حيث يتم التسخين حتى ٢٠٠٠ م ويتم تبخيرها حتى الجفاف وحرقها وتحويلها الى الحالة الذرية وهنا يكون نسبة الذرات التي تتبخر وتتحلل وتصبح جاهزة لامتصاص الطاقة أكبر من ما هو في حالة اللهب المباشر مما يجعل هذه الطريقة مناسبة لتقدير التركيزات الضئيلة من العناصر. وفكرة التقدير هنا مماثلة تماما لما يحدث في حالة اللهب المباشر ما عدا أن التسخين الحرارى هو الذي يقوم بتحويل محلول العينة الى ذرات بدلا من اللهب المباشر، وتتميز طريقة الأفران الكهربية بتجانس الحرارة داخل الفرن، ويتم تغطية أو طلاء أنبوبة الجرافيت Pyrographite coating حتى يمكن إستعمالها فى تقدير كل العناصر بدون مشاكل وتصنع هذه الأفران من مادة الجرافيت العالية النقاوة hig purity graphite (شكل ٦-٣) وبذلك تم التغلب على مشكلة تنظيف الأفران.



شكل (٦-٢): الامتصاص الذرى للعناصر بطريقة الأفران الكهربية Graphite AAS



شكل (٦-٤): حامل أنابيب العينات Auto sampler المستخدم فى طريقة الأفران الكهربية



شكل (٦-٥): أنابيب الجرافيت المستخدمة فى الأفران الكهربية Graphite furnaces

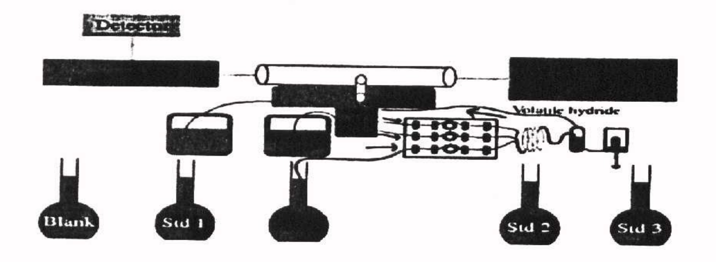
طريقة توليد الهيدريد Hydride Generation method

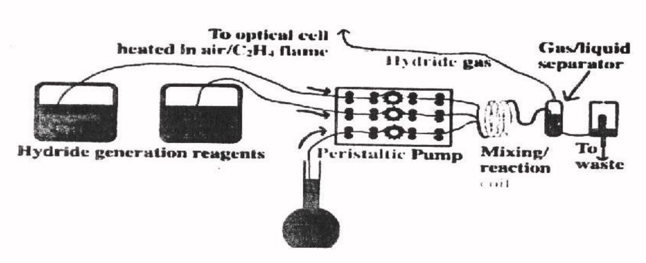
وهي طريقة قديمة تستخدم في جهاز الامتصاص الذري للعناصر لأخذ عينة كبيرة وفصل هيدريدات الغازات المتطايرة volatile gaseous hydrides لبعض العناصر مثل الزرنيخ arsenic والسيلينيوم selenium والأنتيمون antimony والقصدير tin وهنا يتم اضافة مادة مختزلة reducing agent مثل borohydride or lithium aluminium hydride الى حجم كبير من العينة وحمل الهيدريد المتطاير volatile hydried الى رأس الموقد burner head في وحدة الامتصاص الذري للعناصر وتلك العملية تسمى توليد الهيدريد hydried generation ويسمى الجزء الذي يجرى فيه هذا التفاعل الكيماوي مولد الهيدريد Hydride generator كما هو موضح بشكل (٦-٦).

طريقة البخار البارد Cold vapor method

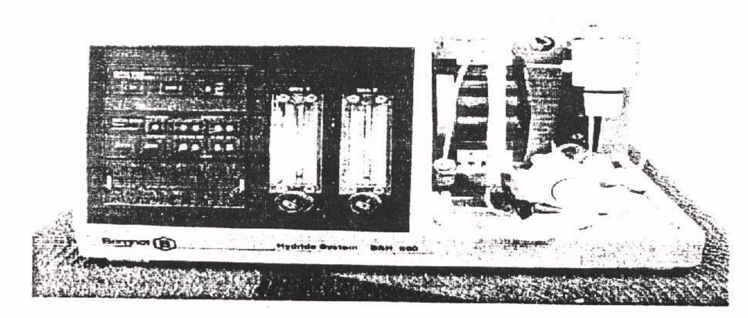
وهي طريقة كيماوية وتستخدم في تقدير عنصر الزئبق وهي تعتمد على ظاهرة التسامي حيث يتحول فيها الزئبق من الصورة الصلبة الى البخارية مباشرة. وهنا يتم عزل بخار الزئبق الذري من محاليل العينة المائية. ويستخدم كلوريد القصديروز stannous chloride كمادة مختزلة لتحرير الزئبق من المحلول ويستخدم هنا غاز الأرجون أو الهواء لغسل flushes البخار الذري وامتصاصه خلال خلية من الكوارتز Fused silica تسمى optical cell سمكها 230 mm ويتم الامتصاص على طول موجة ٢٥٣,٧ نانوميتر كما هو موضح بشكل (٦-٧).

وعموما بصرف النظر عن الطريقة المستخدمة هل باللهب المباشر أو بطرق لا يستخدم فيها اللهب مثل الفرن الكهربي أو التسامي ، فان تحليل العناصر يتم عن طريق عمل محلول قياسي محمض للعنصر standard وتحضير سلسلة تركيزات في مدى معين في حدود الجزء في المليون في حالة اللهب المباشر أو الجزء في البليون في حالة استخدام الفرن وكذلك تحضير العينة في صورة محلول مائي محمض (مثلا محلول ١٠٪ حمض نيتريك في redistiled deionized water) ويتم ادخال البلانك الخاص بالمحلول القياسي ثم المحلول القياسي للعنصر الى الجهاز ، ثم يتم بعد ذلك ادخال البلانك الخاص بالعينات ثم محلول العينات المطلوب تقدير تركيز نفس العنصر فيها الى الجهاز عن طريق ادخال أنبوبة سحب المحلول المتصلة بالجهاز في داخل المحلول المراد قياسه حيث يسحب جزء من المحلول ويحول الى رزاز ثم يخلط الرذاذ مع الغازات وهكذا.

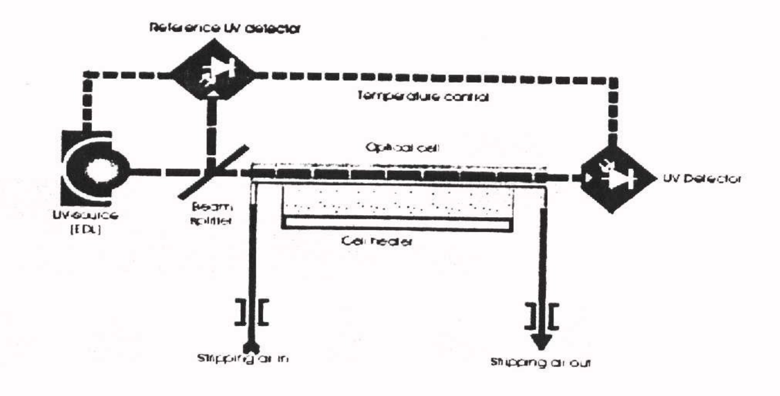


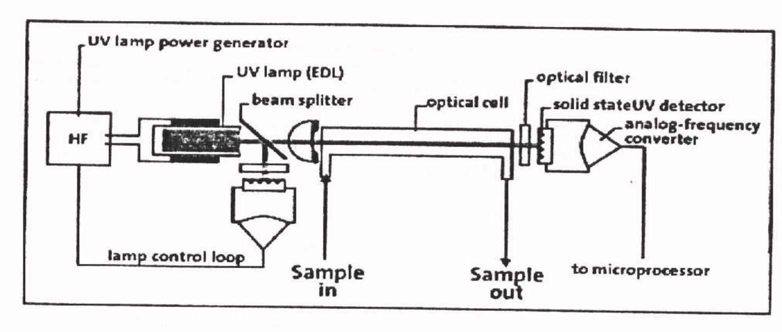


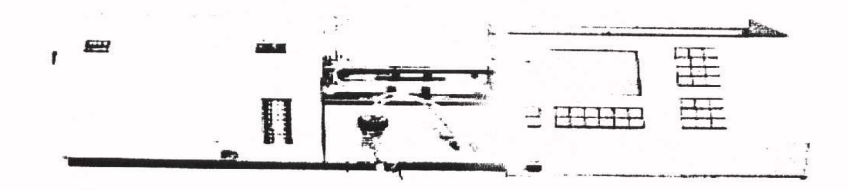
Hydride Generator



شكل (٦-٦): الامتصاص الذرى بطريقة توليد الهيدريد Hydride generation AAS







شكل (٦-٧): الامتصاص الذرى للعناصر بطريقة البخار البارد Cold vapor AAS

أنواع أجهزة الامتصاص الذري للعناصر:

١- جهاز الامتصاص الذري أحادي الحزمة الضوئية Single beam AAS

وتعتمد القياسات فيه على شعاع منفرد يمر على العينة في اللهب كما هو موضح في شكل (٦-٨) وبذلك تتأثر القراءات بأي اخطاء أو اي تذبذب يحدث في مصدر الضوء، وللتغلب على التذبذب في شدة الضوء هنا يتم تسخين لمبة الكاثود قبل بدء القياسات.

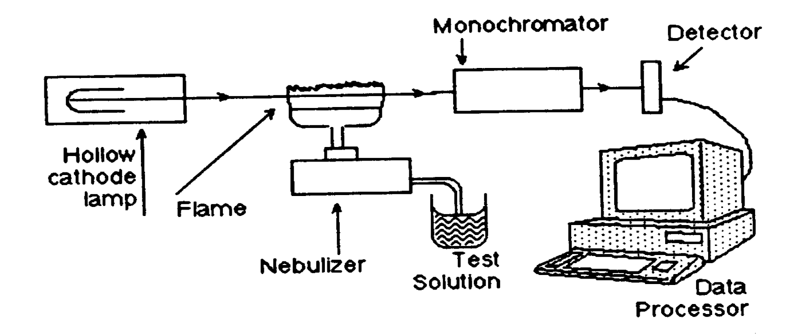
ومن اهم مشاكل جهاز الامتصاص الذرى احادى الحزمة أن تكرار عملية تسخين لمبة الكاثود قبل بدء القياسات يؤدى إلى تآكل طبقة المعدن المغطاة للمبة الكاثود مما يقلل من عمرها الافتراضى.

٢- جهاز الامتصاص الذري ثنائي الحزمة الضوئية Double beam AAS

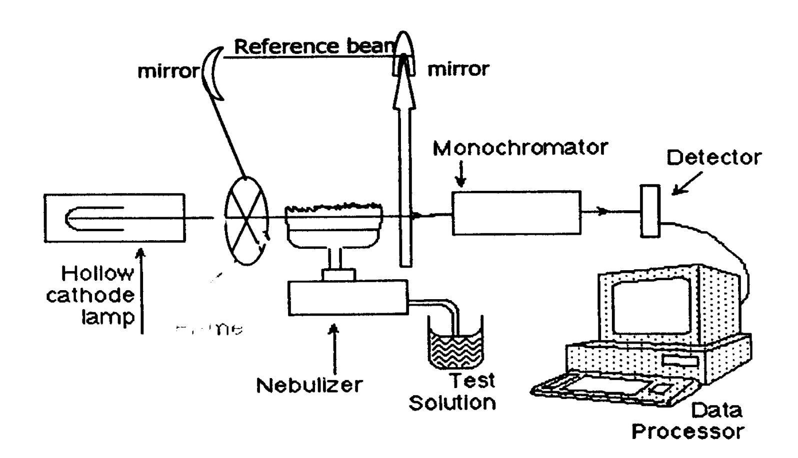
وتعتمد القياسات في جهاز الامتصاص الذري ثنائي الحزمة الضوئية على أن الأشعة الناتجة من مصدر الضوء تنقسم الى جزئين ، جزء من الشعاع يمر على العينة في اللهب sample beam وجزء آخر من الشعاع يدور حول اللهب و لا يمر به Reference beam كما هو موضح بشكل (٦-٩)ويستخدم هذا الشعاع المرجع كدليل على شدة مصدر الضوء.

والفرق بين جهاز الامتصاص الذري أحادي الحزمة والثنائي الحزمة الضوئية هو أن القراءة الناتجة في حالة الجهاز أحادي الحزمة الضوئية single beam تعطي شدة الشعاع المنفرد ، أما في حالة الجهاز ثنائي الحزمة الضوئية double beam فان القراءة عبارة عن نسبة بين شدة الشعاع الذي يمر على العينة والشعاع المرجع ratio of sample and reference beams وذلك يعني أن التذبذب في شدة مصدر الضوء لا يؤثر على قراءات أجهزة double beam كما أن zero point وهو قراءة الـ blank يكون أكثر ثباتا.

ومن ناحية اخرى نجد ان لمبة الكاثود في أجهزة الامتصاص الذري ثنائي الحزمة الضوئية لا تحتاج الى تسخين قبل بدء القياسات مما يطيل من عمرها الافتراضي وذلك لأن التذبذب في شدة مصدر الضوء لا يؤثر على القراءات.



شكل (٦-٨): جهاز الامتصاص الذرى للعناصر أحادى الحزمة الضوئية Single beam AAS



شكل (٦-٩): جهاز الامتصاص الذرى للعناصر ثنائى الحزمة الضوئية Double beam AAS

مكونات جهاز الامتصاص الذري للعناصر:

يتكون جهاز الامتصاص الذري للعناصر من الوحدات الأساسية التالية:

١- مصدر الضوء (لمبة الكاثود) (Source of light (Hollow Cathode Lamp, 190 – 800 nm

٢- وحدة وضع العينة (Sample compartment (Nebulizer, Burner, Flame

٣- موحد الموجات Grating monochromator

٤- الكشاف Photomultiplier tube detector

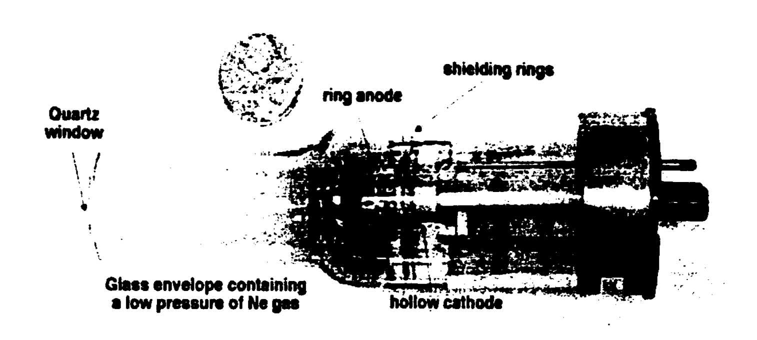
٥- وحدة التسجيل Digital display or strip chart recorder

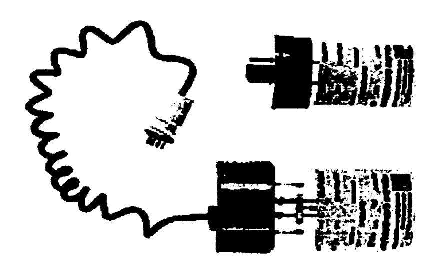
مصدر الضوء Hollow Cathode Lamp

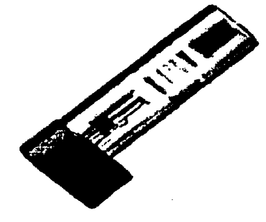
كل عنصر له لمبة خاصة به تمثل مصدر للضوء، ويشع مصدر الضوء الطيف الذري للعنصر المراد تقديره ويسمى مصدر الضوء باسم العنصر نفسه ، أي لمبة الرصاص تستخدم لتقدير عنصر الرصاص ، لمبة النحاس تستخدم لتقدير عنصر النحاس وهكذا ويطلق على مصدر الضوء في جهاز الامتصاص الذري للعناصر لمبة الكاثود Hollow Cathode Lamp

وتتكون لمبة الكاثود كما هو موضح بالرسم، شكل (٦-١٠) من أنبوبة زجاجية مفرغة تحت ضغط يصل الى 2 mm Hg ، وهذه الأنبوبة تملأ بغاز خامل مثل النيون أو الأرجون ، ويوجد في أحد طرفيها نافذة يمر منها الضوء وعند الطرف الآخر يوصل التيار الكهربي حيث ينتهي هذا الطرف بسلكين من مصدر التنجستن أحدهما يعمل آنود والآخر يعمل كاثود وهو متصل باسطوانة مفرغة ومغطاة بطبقة من المعدن (نحاس – قصدير – نيكل او اي عنصر آخر).

ويمكن استخدام لمبة لأكثر من عنصر وتسمى Multi-element lamp ولكن اللمبات التي تستخدم لعنصر واحد فقط single element تفضل في الاستخدام لأنها أرخص في الثمن ، كما أنه اذا تلفت اللمبة لأي سبب من الأسباب تكون لعنصر واحد فقط ويسهل شراء غيرها.







شكل (٦-١٠): لمبة الكاثود Hollow cathode lamp

وينبعث الضوء من اللمبة على ثلاثة مراحل process كما هو موضح بشكل (٦ ١١):

١- عند توصيل التيار الكهربي يحدث فرق في الجهد بين الأنود والكاثود ينتج عنه تأين لبعض جزيئات الغاز الخامل الموجود داخل اللمبة.

٢- تنجذب أيونات الغاز الخامل الموجبة الى سطح الكاثود المحمل بشحنة سالبة وتصطدم به وينشطر بعض ذرات العنصر التي تعمل كطبقة تغطي سطح الكاثود.

٣- بعض ذرات العنصر المنشطرة من سطح الكاثود تكون مثارة وبالتالي تعود تلقائيا الى حالة الاستقرار وينبعث منها أشعة لها نفس التردد والطول الموجي الخاص بطيف العنصر المراد قياسه. يمتص جزء من هذه الأشعة عند مرورها على ذرات العنصر في اللهب ويقاس تركيز هذه الذرات بمقدار كمية الطاقة الممتصة.

العوامل التي تؤثر على كفاءة تشغيل اللمبة:

١- يتم تشغيل اللمبة باستخدام تيار مباشر DC لايزيد عن ٢٠-٣٠ مللي أمبير ويمكن أن تعمل اللمبة لمدة ٦ أشهر أو ٥٠٠٠ ساعة وبما أن التشغيل ينتج عنه ازالة جزء من الكاثود ، وذلك يعنى أن اللمبة تستهلك بعد فترة ، ويتوقف معدل استهلاك المهبط على مقدار المللي أمبير المستخدم وكذلك على نوع العنصر (حيث أن العناصر الطيارة يكون فيها استهلاك المهبط بمعدل أعلى).

٢- عدم تشغيل اللمبة لفترات طويلة يؤدي الى تلفها أيضا لأنه يحدث ادمصاص لجزيئات الغاز على الجدار الداخلي الخاص باللمبة وبالتالي لا يحدث تأين لغازالأرجون أو النيون المالئ عند التشغيل.

مكونات العينة Sample compartment

يتم تقدير العنصر في صورة بخار ذري ولذلك يحدث للعينة اختزال لتصبح جسيمات ذرية متعادلة neutral atoms ثم تتبخر vaporized وتتفرق dispersed في حزمة الأشعة.

وتتكون وحدة التحول الذرى عن طريق اللهب flame atomizer من:

١- المرذاذ Nebulizer

وظيفة المرذاذ nebulizer هي سحب محلول العنصر المطلوب تقديره وتحويله الى رذاذ دقيق ، ويمكن أن يسحب حجم من العينة حوالي ٣-٤ مل/دقيقة مما يجعل الاستجابة سريعة وتظهر القراءة بعد ثانية واحدة فقط من عملية السحب ، ويصنع المرذاذ من مادة

غير قابلة للتآكل حيث أن العينات تحتوي على أحماض متخلفة عن عملية الهضم وكذلك احماض مستخدمة في تخفيف العينات واذابتها ، ويتم سحب العينات خلال أنبوبة شعرية توضع في المحلول تحت تأثير ضغط الهواء الى داخل غرفة خلط الغازات بالموقد وتكون العينة في صورة رذاذ دقيق ويصرف بقية الرذاذ المتبقي الى الخارج من فتحة أسفل المرذاذ nebulizer أو يتم تكسيرها الى حبيبات أدق لزيادة حجم العينة المستخدمة في القياس التي لاتزيد عن ١٠ ٪ من الكمية المستخدمة من العينة.

ومن أهم عيوب المرذاذ حدوث انسداد في الأنبوبة الشعرية بسبب وجود أي رواسب في العينة ولذلك يجب الترشيح والتأكد من تجانس العينة.

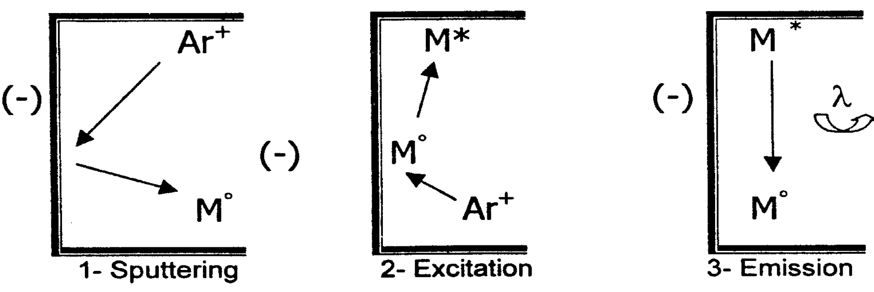
٢- الموقد burner

ويوجد نوعان من الموقد Burner وهما:

١- الموقد سابق الخلط Pre-mix type

٢- الموقد كامل الاحتراق Total combustion type

ويتم خلط كل من العينة والوقود والمادة المؤكسدة في النوع الأول قبل الوصول الى اللهب في غرفة خلط الغازات. حيث يتم سحب المحلول داخل المرذاذ ويدفع في صورة رذاذ دقيق في غرفة خلط الغازات التي تحتوي على فتحتين احدهما يدخل منها الوقود والأخري العامل المؤكسد لحدوث الاشتعال ، ويدفع تيار الغاز حبيبات الرذاذ معه الى رأس الموقد Burner head حيث يتم الاشتعال والاحتراق ويتم تحويل العنصر الى ذرات. ويصنع رأس الموقد من مادة غير قابلة للتأكسد في درجات الحرارة العالية.



شكل (٦-١١): مراحل انبعاث الضوء من لمبة الكاثود

٣. اللهب Flame

يشترط في اجهزة flame atomic absorption ان تكون حرارة الشعلة 2000 k او اكثر ولهذا يتم اشعال الغاز مع عامل مؤكسد مثل الهواء او اكسيد النيتروز او الأكسيجين مخلوطا مع النتروجين او الأرجون.

ويوضح شكل (٦-١٢) المرزاز والموقد واللهب Nebulizer spray chamber

ويوجد عدة مخاليط من الغازات تعطي لهب ذو درجات حرارة مختلفة تتناسب وخواص العناصر تحت التقدير للحصول على اعلى حساسية من المحلول المستخدم في القياس.

ويمكن توضيح مخاليط الغازات المستخدمة في تكوين اللهب بالنظر بالجدول (٦-١)

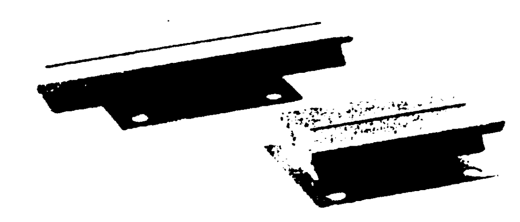
جدول (٦-١): مخاليط الغازات المستخدمة فى جهاز الامتصاص الذرى للعناصر

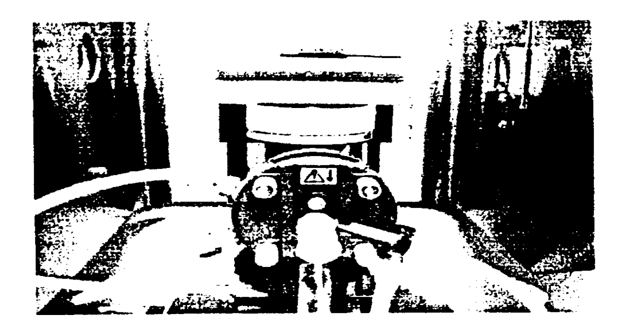
Fuel gas	Oxidant gas	Temperature
Acetylene	Air	2300 °C
Acetylene	Nitrous oxide	2900 °C
Hydrogen	Air	2200 °C
Hydrogen	Nitrous oxide	2900 °C
Propane	Air	1900 °C
Propane	Nitrous oxide	3000 °C

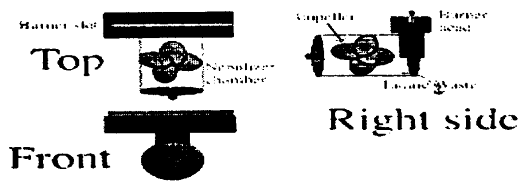
ويجب ضبط سرعة سريان غاز الاشتعال والغاز المؤكسد حيث يكون أحيانا معدل سريان غاز الاشتعال هو الأعلى وفي أحيان أخرى يكون سريان الغاز المؤكسد هو الأعلى.

ويمكن استخدام الأسيتيلين التجاري كغاز اشتعال Commercial grade acetylene، كما يمكن استخدام الهواء المدفوع من مضخة compressed air line from a laboratory compressor أو من خلال اسطوانة بها هواء مضغوط كغاز مؤكسد.









Nebulizer and Flame

شكل (٦-١٢): الموقد واللهب والمرزاز Nebulizer spray chamber

ويعتبر مخلوط Air-Acetylene هو أفضل أنواع اللهب ويستخدم في تقدير حوالي ٣٩ عنصر . ويجب أن نراعي أن لا ينخفض المخزون في اسطوانة غاز الأسيتيلين عن ٥ كجم/سم^{2} وخاصة اذا استخدمنا غاز الأسيتيلين التجاري المستخدم في اللحام لأنه مخلوطا بالأسيتون مما يقلل من دقة النتائج الى جانب أن الأسيتون يؤثر على بعض الوصلات في الجهاز والمصنوعة من المطاط . كما أن ضغط غاز الأسيتيلين الخارج من الاسطوانة يجب أن لايزيد عن ٨و. : ١ كجم/سم^{2} حتى لا يحدث تحلل للغاز يعقبه انفجار.

وبصفة عامة المواصفات القياسية لاسطوانة الأسيتيلين هي:

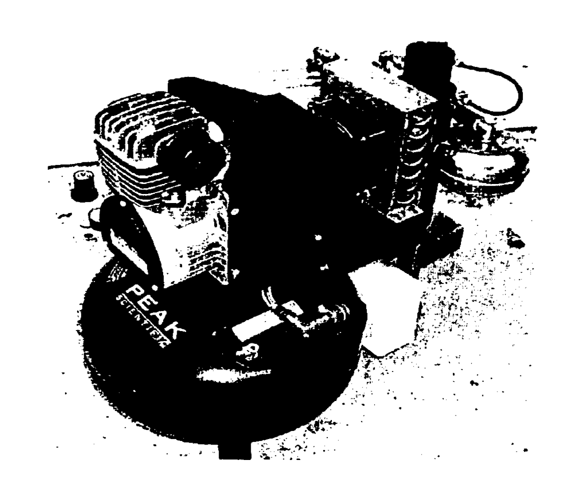
١- سعتها ٨٥٠٠ لتر

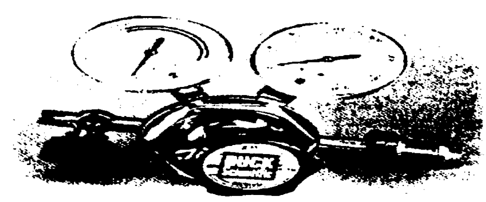
٢- الضغط الابتدائي لها ١٧ كجم/سم^{2} ولا يتم تشغيلها اذا انخفض الضغط الى ٥ كجم/سم^{2} .

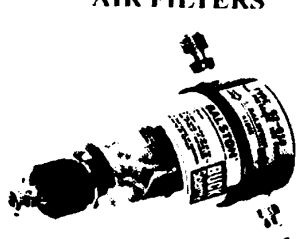
ويوضح شكل (٦-١٣) مضخة الهواء المستخدمة فى جهاز الامتصاص الذرى للعناصر لدفع الهواء اللازم لتكوين اللهب وكذلك مرشح الهواء وعداد الضغط لضبط كمية الهواء المندفعة وقياس الضغط.

يستخدم مخلوط غاز أكسيد النيتروز مع الأسيتيلين في تقدير العناصر التي تحتاج الى حرارة عالية مثل الفوسفور والكالسيوم والسيليكون والألومنيوم حيث أن هذه العناصر تكون ثابتة عند درجة الحرارة التي يوفرها مخلوط الهواء مع الأسيتلين (2300 °C) ولكن عند رفع درجة الحرارة الى 2900 °C يسهل تفكك ذرات هذه العناصر وتحويلها الى الصورة الذرية المستقرة.

أما تقدير العناصر باستخدام الفرن الكهربي furnace يحتاج الى ارجون فقط حيث أن حرق العينات يتم في الفرن الكهربي بعد سحبها بواسطة auto sampler







6284-326
for Nitrous Oxide

6284-580
for Argon/ ICP Systems

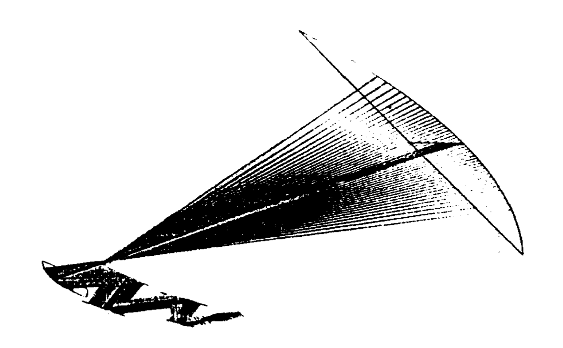
شكل (٦-١٣): مضخة دفع الهواء والمرشح والمنظم فى جهاز AAS

قاطع الضوء Chopper

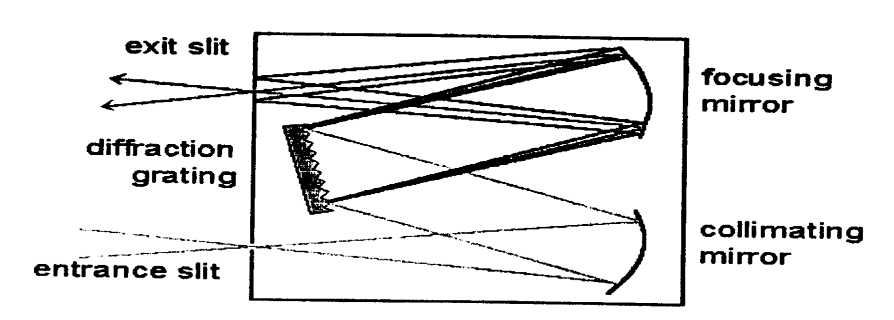
يقوم بالتحكم في مرور الأشعة حيث يمنع المرور ثم يسمح بالمرور للأشعة الناتجة من مصدر الضوء الى اللهب بسرعة ثابتة على التوالي modulate the radiation source (switched on and off) وذلك يؤدي الى تكبير الأشعة الناتجة من مصدر الضوء في فترة السماح بمرور هذه الأشعة وعدم السماح بمرور الضوء المنبعث من اللهب في فترة الظلام. (شكل (٦-١٤)

موحد الموجات Monochromator

يستخدم موحد الموجات لتمييز الأطوال الموجية المنبعثة من مصدر الضوء والمارة باللهب وذلك للسماح فقط بمرور الأطوال الموجية المطلوبة دون مرور الموجات الأخرى لتصل الى الكشاف photomultiplier tube (PMT) حيث تدخل الحزمة الضوئية المنبعثة من اللمبة والمارة باللهب من فتحة دخول موحد الموجات فتصل الى مرآة عاكسة لتعكس الحزمة الضوئية على المحزوز الذي يعمل على تفريق وتمييز الموجات الساقطة عليه ثم تعكسها على مرآة عاكسة أخرى موضوعة بزاوية معينة بحيث تسمح فقط بمرور الأطوال الموجية المرغوب فيها من فتحة الخروج الى الكشاف. كما هو موضح فى شكل (٦-١٥)



شكل (٦-١٤): قاطع الضوء Chopper



شكل (٦-١٥): موحد الموجات monochromator

الكشاف Detector

تستخدم انابيب تكبير الضوء photomultiplier tube للكشف عن شدة الشعاع الساقط عليها وذلك بتحويلها الى تيار كهربي يعتمد في شدته على شدة الضوء الساقط على الخلية الضوئية. ثم يتم تكبير التيار الكهربي الناتج من الخلية الضوئية ويحول الى قياسات تدل على مقدار امتصاص العينة من الضوء Absorbance على شاشة رقمية تتراوح قراءتها بين 1.999 – 0.000 على أساس قانون Beer ، وفي الأجهزة الحديثة تحول القراءة مباشرة الى تركيز العنصر في العينة معبرا عنها بوحدات (mg/liter (ppm

التقدير الكمي Quantitative analysis

عندما يمر شعاع ضوئي شدته (I_0) على اللهب الذي يحتوي على العنصر المراد تقديره فان جزء من الشعاع يمتص وجزء آخر يمر ويعبر عن الجزء الممتص من الشعاع بـ Absorption % ويمكن التعبير عن ذلك رياضيا باستخدام قانون Lambert Beer's law

$$A = \text{Log}(I_0 - I) = \text{Log } 100 / \%T = \text{Log } 100 - \text{Log } \% T = 2 - \text{Log } \% T$$

حيث : A تعبر عن الامتصاص ، I_0 شدة الشعاع الناتج من مصدر الضوء ،

I شدة الشعاع النافذ الى الـ PMT

$$A = 2 - \text{Log } \% T = KLC$$

حيث : K معامل الامتصاص ويتوقف على نوع العنصر المراد تقديره.

L طول مسار الضوء في العينة (flame) ، C تركيز العنصر.

∴ يمكن تمثيل العلاقة بين الامتصاص و تركيز العنصر المراد تقديره في صورة معادلة خط مستقيم وتوقيعها بيانيا كما هو بشكل (٦-١٦)

$A = 2 - \text{Log } \% T$

If $\text{Log } \% T = \text{zero}$ ∴ $A = 2 = KLC$

توقع A على المحور السيني بحد أقصى ٢ أي عندما يحدث امتصاص كامل لشدة الضوء الساقط ، وتوقع C على المحور السيني ويعبر عن التركيزات المختلفة للعنصر المراد قياسه معبرا عنه بوحدات ppm ويجب أن تقع القراءات في خط مستقيم حتى ينطبق عليها صورة معادلة الخط المستقيم.

الحساسية Sensitivity

هي تركيز العنصر المراد تقديره في المحلول (mg/l) الذي يمتص ما يوازي ١ ٪ من الأشعة الآتية من مصدر الضوء الخاص بالعنصر.

او هي تركيز العنصر (mg/l) الذي يعطي امتصاص يساوي 0.0044 تبعا لقانون Lambert - Beer

$A = \text{Log } 100 / \text{Log } \%T$

$\%A = 100 - \%T$ ....(1)

$\%T = 100 - \%A, \quad \%A = 1$

$\%T = 100 - 1 = 99$ ....(2)

From (1) and (2)

$A = \text{Log } 100 - \text{Log } 99 = 2 - 1.9956 = 0.0044$

و في النهاية يمكن القول أن الحساسية sensitivity هي التركيز الذي يقابل امتصاص قدره 0.0044 أو 1 % من الشعاع الساقط.

حدود التقدير Detection Limit

هو أقل تركيز من العنصر يمكن تقديره بحد ثقة ٩٥ ٪ أو أقل تركيز يعطي اشارة مميزة عن الـ back ground noise وهي تعادل ضعف قيمة تذبذب قراءة البلانك على الجهاز (signal to noise ratio)

أو هي تركيز العنصر الذي يعطي امتصاص يساوي ضعف قيمة الانحراف القياسي لسلسلة من القياسات. ويطلق عليها limit of detction (LOD)

ويوجد مصطلح آخر يسمى limit of quantitation (LOQ) وهو عبارة عن تركيز العنصر الذى يعطى امتصاص يساوى عشرة أضعاف قيمة الانحراف القياسى standard deviation (S.D.) لسلسلة من القياسات

الاحتياطات الواجب اتباعها عند استخدام وتداول العينات للتحليل باستخدام جهاز الامتصاص الذري للعناصر:

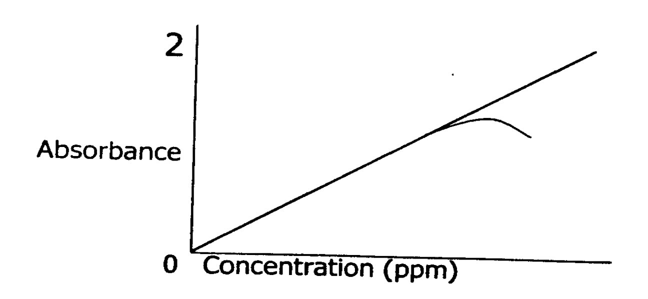
١- الأتربة والغبار dust الموجودة في هواء المعمل dust in the lab environment قد يؤدى إلى تلوث العينات.

٢- الشوائب الموجودة في الكيماويات المستخدمة في التحضير impurities in reagents قد تؤدى إلى تلوث العينات.

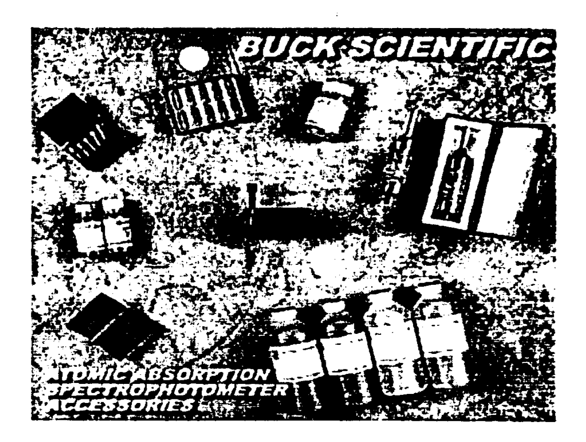
٣- الشوائب الموجودة على الأجهزة الموجودة بالمعمل impurities on laboratory apparatus يمكن أن تسبب تقديرات خاطئة إذا تداخلت مع العينات.

٤- في حالة العينات السائلة فان الأوعية التي توضع فيها العينات sample containers يمكن ان تسبب خطأ في القياس ، وقد يكون هذا الخطأ بالزيادة positive error أو بالنقص negative error حيث يمكن أن يحدث انتقال للملوثات من الجدار الداخلي للأوعية الى محلول العينات فيزيد التركيز أو العكس قد يحدث ادمصاص لبعض العناصر من محلول العينات على جدار أوعية العينات.

٥- يمكن استخدام أوعية العينات sample bottle المصنوعة من borosilicate glass أو polyethylene أو polypropylene او Teflon كما هو موضح بشكل (٦-١٧)وذلك بعد غسلها جيدا بالماء والصابون ثم محلول tap water 1:1 nitric acid, ثم محلول 1:1 HCl : Tap water وفي النهاية غسلها بماء مقطر منزوع الأيونات deionized distilled water ويمكن استخدام حمض الكروميك في الغسيل لازالة المتبقيات العضوية من الزجاج ولكن يجب الغسيل جيدا بالماء للتخلص من آثار الكروم وخاصة اذا كنا نرغب في تقدير عنصر الكروم في العينات.



شكل (٦-١٦): العلاقة بين الامتصاص والتركيز



شكل (٦-١٧): أوعية العينات Sample bottles

تحضير المحاليل القياسية Preparation of standard solution

يتم التحضير باستخدام معادن عالية النقاوة high purity metals أو أكاسيدها metal oxides أو أملاح المعادن النقية non hygroscopic reagent grade salts باستخدام ماء مقطر منزوع الأيونات deionized distilled water وأحماض النيتريك أو الهيدروكلوريك بعد تقطيرها redistilled nitric or hydrochloric acids و ينصح بتجنب حمض الكبريتيك والفوسفوريك. ويتم تحضير تركيز 1000 ppm ، ويمكن استخدام المحاليل القياسية المحضرة تجاريا Commercially standard solutions.

ويتم تجهيز محاليل قياسية للمعايرة Calibration standards بتخفيف تركيز المعدن الأصلي عند وقت التحليل ويجب أن يتم ذلك عند كل تحليل ويهمل ما يتبقى من تلك المحاليل المخففة للمعايرة ولا تستخدم في المرة التالية للتحليل.

ويجب تحضير بلانك blank وعلى الأقل أربعة تركيزات calibration standards متدرجة التخفيف في المدى المناسب للقياس وهو المدى الخطي linear range أي الذي يكون فيه علاقة تضاعف طردية بين التركيز والامتصاص.

مثال: تحضير محلول قياسي من الكالسيوم في المدي المسموح به لقراءات الجهاز.

يستخدم ملح كربونات الكالسيوم ويذاب في أقل كمية من حمض HCl لتحضير تركيز 1000 ppm على أساس الكالسيوم

1000 ppm = 10^3 g / 10^6 ml = 1 g Ca / L

$CaCO_3 \longrightarrow$ Ca

40 + 12 + (3x16) g $CaCO_3 \longrightarrow$ 40 g Ca

100 g $CaCO_3 \longrightarrow$ 40 g Ca

x g $\longrightarrow$ 1 g Ca

$\therefore$ 2.5 g Ca $CO_3 \longrightarrow$ 1 g Ca

2.5 g Ca CO_3 dissolved in 1 L Solvent to give 1000 ppm Ca

Prepare secondary stock solution of 10 ppm Ca using the following equation:

1000 ppm x V_{ml} = 10 ppm x 500 ml

V_{ml} = 5 ml

يؤخذ ٥ مل وتخفف الى ٥٠٠ مل لتعطي ١٠ جزء في المليون ثم نحضر منها سلسلة التركيزات المطلوبة وهي ١ ، ٢ ، ٤ ، ٥ جزء في المليون.

ويستعرض جدول (٦-٢) الحساسية وحدود التقدير ومدى التركيزات التى تكون فيها عملية الامتصاص خطية.

جدول (٦-٢): الحساسية وحدود التقدير للعناصر باستخدام جهاز الامتصاص الذرى للعناصر

Atomic Absorption concentration ranges

Metal	Det. Limit mg/l (ppm)	Sensit. mg/l (ppm)	Optimum Concentration range mg/l	Det. Limit µg/l (ppb)	Optimum Concentration range mg/l
Al	0.1	1	5 - 50	3	20 - 200
Sb	0.2	0.5	1 - 40	3	20 - 300
Ba	0.1	0.4	1 - 20	2	10 - 200
Cd	0.005	0.025	0.05 - 2	0.1	0.5 - 10
Co	0.05	0.2	0.5 - 5	1	5 - 100
Cu	0.02	0.1	0.2 - 5	1	5 - 100
Fe	0.03	0.12	0.3 - 5	1	5 - 100
Pb	0.1	0.5	1 - 20	1	5 - 100
Mg	0.001	0.007	0.02 - 0.5	-	-
Mn	0.01	0.05	0.1 - 3	0.2	1 - 30
Hg	0.0002	-	0.0002 - 0.01	-	-
Ni	0.04	0.15	0.3 - 5	1	5 - 50
K	0.01	0.04	0.1 - 2	-	-
Se	0.002	-	0.002 - 0.02	2	5 - 100
Ag	0.01	0.06	0.1 - 4	0.2	1 - 25
Na	0.002	0.015	0.03 - 1	-	-
Sn	0.08	4	10 - 300	5	20 - 300
Zn	0.005	0.02	0.05 - 1	0.05	0.2 - 4

الطريقة العامة للتقدير بجهاز الامتصاص الذري للعناصر General Procedure

١- نختار لمبة الكاثود المناسبة للعنصر المطلوب تقديره.

٢- يسمح للمبة أن تسخن على الأقل ١٥ دقيقة في حالة الأجهزة single beam أو يمكن استخدامها مباشرة في حالة أجهزة double beam

٣- يتم ضبط الجهاز بتحديد طول الموجة المستخدم وتحديد اتساع الفتحة التي تخرج منها حزمة الأشعة slit width وضبط شدة التيار للمبة lamp current على حسب توصيات الشركة المصنعة للمبة.

٤- ضبط سرعة سريان الغازات في الموقد والمرذاذ لكي نحصل على أعلى نسبة امتصاص مع ثبات القراءات.

٥- نرسم المنحنى القياسي calibration , curve الذي يربط العلاقة بين التركيز والامتصاص باستخدام المحاليل القياسية.

٦- يتم قياس العينة وتقدير تركيزها مع ادخال المحاليل القياسية للتقدير بعد كل عدد من العينات للتأكد من ثبات الجهاز.

الحالات الخاصة في الاستخلاص Special extraction procedure

عندما يكون تركيز المعدن ضئيل جدا جدا لدرجة لا تسمح بتقديره أو عندما تحتوي العينات على مواد صلبة أخرى ذائبة فيها فان بعض المعادن يمكن خلبها chelated واستخلاصها من هذه العينات بمذيبات عضوية معينة.

ويستخدم مركب Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) مذابا في methyl isobutyl ketone (MIBK) على نطاق واسع لهذا الغرض ويكون مفيدا في حالة عنصر Zn, Cd, Fe, Mn, Cu, Ag, Pb, Cr

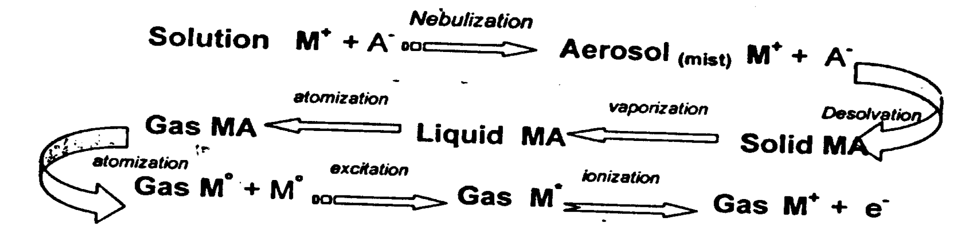
أيضا يمكن استخدام المشتق الحامضي له وهو مركب APDC-pyrrolidine dithiocarbamic acid مذابا في الكلوروفورم ، وهو افضل لأنه أكثر ثباتا ويمكن حفظه في زجاجات بنية اللون لعدة شهور داخل الثلاجة.

التداخلات الكيماوية أثناء التقدير Chemical interference

من مصادر التداخلات الكيماوية في جهاز الامتصاص الذري:

الأول: عمليات اللهب Flame process

تبدأ عمليات الحرق في اللهب من العنصر في صورة محلول ثم يتحول الى رذاذ تحت تأثير سحبه بتيار من الهواء ثم يخلط مع الغازات ويخرج من راس الموقد الى اللهب وفيه يحدث تجفيف للمحلول بتبخير الماء تاركا العنصر في صورة ملح صلب الذي يتحول الى سائل ثم الى غاز ثم يتفكك الى ذرات مستقرة A°, M° وبعد ذلك تمتص الذرات ضوء فتتحول الى ذرات مثارة M^{*} وقد يتحول بعضها خطأ الى أيونات M^{+} اذا كانت الحرارة أعلى من اللازم. كما هو موضحج بشكل (٦-١٨)



شكل (٦-١٨): عمليات اللهب Flame process التى تتم فى جهاز AAS

من ذلك يتضح أن العلاقة بين عدد الذرات في اللهب وتركيز العنصر في المحلول محكومة بعمليات اللهب السابق شرحها ، وعلى ذلك فان أي مكون في العينة حدث له أي تأخير في أي عملية من عمليات اللهب عن تلك التي تحدث في الـ standards يحدث ما يسمى interference وبالتالي نحصل على قراءات خاطئة لتركيز العنصر.

الثاني: تداخل نسيج العينة Matrix interference

ويحدث في أثناء عملية الـ nebulization ويأتي من ارتفاع في لزوجة الوسط عن المحلول القياسي أو تركيز المذيب مما يقلل من معدل سحب العينة عن المحلول القياسي فتعطي قراءة أقل من الحقيقة ويمكن التغلب على هذا الخطأ بالتخفيف.

الثالث: تكوين مركبات ثابتة Stable compound formation

تتكون مركبات ثابتة لا تتفكك على درجة الحرارة الناتجة عن استخدام مخلوط الهواء — الأسيتيلين وبالتالي يقل عدد ذرات العنصر التي تمتص الضوء المنبعث من لمبة الكاثود وبالتالي نحصل على قراءات أقل من الحقيقة ويحدث ذلك في خطوة الـ atomization في اللهب.

مثال ذلك عند قياس الكالسيوم فانه يتأثر بوجود الفوسفور الذي يتفاعل معه ويكون فوسفات الكالسيوم وهو مركب ثابت لا يتفكك على درجة حرارة حرق الهواء — الأسيتيلين وبالتالي يقل تركيز الكالسيوم المتاح للتقدير في العينة قبل الحرق الى حوالي ٨٠ ٪ من قيمته الحقيقية . وللتغلب على هذا الخطأ يمكن استخدام مادة كلوريد اللانثانيوم lanthanum chloride على اعتبار أنها مادة تقوم بتحرير الكالسيوم من الفوسفور ويطلق عليها releasing reagent فعند اضافتها بتركيز عالي تتحد مع الفوسفور وينفرد الكالسيوم والذي يتم تقديره ، كما يمكن التغلب على ذلك أيضا باستخدام مخلوط غازات يعطي درجة حرارة حرق عالية مثل مخلوط غازات اكسيد النيتروز — الأسيتيلين حيث أن درجة حرارته تصل الى ٢٩٠٠ درجة مئوية مما يؤدي الى تفكك فوسفات الكالسيوم وتحرير الكالسيوم.

الرابع: تداخل الأيونات Ionization interference

يحدث عند درجات الحرارة المرتفعة أن بعض ذرات المحلول لا تصل الى صورة ذرات مستقرة بل تحولها الى ذرات مثارة ثم الى أيونات وبالتالي لا يحدث امتصاص للضوء من لمبة الكاثود لأن الامتصاص يتوقف على عدد الذرات المستقرة ويقل الامتصاص، ويمكن التغلب على ذلك باستخدام مخلوط غازات يعطي درجة حرارة أقل أو اضافة عنصر آخر سهل التأين مثل الصوديوم أو البوتاسيوم وبتركيزات مرتفعة بحيث أنه يتأين ويرفع تركيز الشحنة السالبة في اللهب مما يقلل من تأين العنصر تحت التقدير.

الخامس: تداخل المذيب أو مواد أخرى غير العنصر Back ground interference

وجود مذيبات في اللهب قد يسبب امتصاص للضوء في مدى واسع من الطيف وبالتالي يكون الامتصاص راجع الى العنصر والمذيب معا ، أما وجود مواد صلبة في اللهب يؤدي الى حدوث تشتت للضوء وبالتالي يقل الامتصاص.

وللتخلص من هذا التداخل أو الخطأ في التقدير لابد من قياس Back ground absorption ثم يطرح من الامتصاص الكلي للتقدير وبالتالي يكون الامتصاص راجع للعنصر المطلوب تقديره فقط.

الفصل السابع

التحليل الكروماتوجرافي بالغاز

Gas Chromatographic Analysis

مقدمة:

ان أهم مشكلتين تواجه الشخص القائم بالتحليل هي دقة التحليل accuracy وامكانية تكرار عملية التحليل والحصول على نفس النتائج reproducibility وخاصة اذا كان تركيز المادة المراد تحليلها ضئيل جدا وموجود معه مواد أخرى يمكن أن تتداخل في عملية التحليل interfering substances ولكي يمكن أن يتحقق ذلك لابد أن نسير في اتجاهين متوازيين:

الاتجاه الأول: استخدام طريقة تحليل متخصصة جدا لنوع المركبات التي نقوم بتحليلها.

الاتجاه الثاني: استخدام طريقة فصل جيدة لفصل المركب المراد تحليله عن المواد المتداخلة معه.

وتوجد بعض العوامل الأساسية التي يجب أن يضعها الشخص القائم بالتحليل أمامه ، وهذه العوامل يمكن ايجازها فيما يلي:

١. القدرة على فصل وتمييز المركب المراد تحليله من بين المواد الأخرى المتداخلة معه ويطلق على هذه العملية resolution of the separation

٢. الحصول على حساسية مثلى للطريقة المستخدمة في التحليل optimization of the sensitivity وذلك بالاعتماد على استخدام كشاف اختياري للمركب المراد تحليله من بين المواد الأخرى المتداخلة معه detector selectivity

٣. الطريقة المستخدمة في التحليل يجب أن تكون موثوق بها reliable ويمكن تكرارها للحصول على نفس النتائج reproducible

٤. سرعة التحليل analysis speed وهو عامل هام من الناحية العملية لتقليل تكاليف عملية التحليل.

وبصفة عامة فان الحساسية sensitivity والكشف الاختياري detection selectivity هي الأساس في اختيار نوع الكشاف المستخدم كما أن الحساسية من ناحية أخرى تتطلب الحصول على منحنى كروماتوجرافي حاد peak sharpness

أما امكانية تكرار عملية التحليل فهي تعتمد في المقام الأول على جهاز مصمم تصميما جيدا وحديثا وشخص قائم بالتحليل على أساس خبرة عالية.

والمفهوم الأساسي لكل عمليات التحليل الكروماتوجرافي هو أن العينة المراد تحليلها تسير خلال عمود كروماتوجرافي column يحتوي على وجهين أحدهما ثابت stationary phase والآخر متحرك mobile phase وتتوزع المادة المراد تحليلها بين الوجه الثابت والوجه المتحرك على أساس معامل التوزيع distribution constant والذي يتوقف على طبيعة المادة المراد تحليلها هل هي قطبية أم غير قطبية وكذلك على طبيعة كل وجه من هذه الأوجه.

$$\text{معامل التوزيع} = \frac{\text{تركيز المادة المراد تحليلها في الوجه الثابت}}{\text{تركيز المادة المراد تحليلها في الوجه المتحرك}}$$

ولكي يتم فصل مركبين فصلا جيدا بواسطة العامود الكروماتوجرافي لابد أن يكون لهما معامل توزيع مختلف أي أن كل مركب له معامل توزيع خاص به يتوقف على طبيعة ذلك المركب وبالتالي تختلف عملية توزيعه على الوجهين الثابت والمتحرك.

أما اذا كان المركبان لهما نفس معامل التوزيع فاننا نتوقع أن يخرجان من العمود الكروماتوجرافي معا ويكون لهما نفس قيمة وقت الاحتباس retention time

ومن ناحية أخرى اذا كان مركب له قيمة معامل توزيع كبيرة فان ذلك يعني أن المركب سيظل مع الوجه الثابت فترة طويلة أي يتم حجزه على عمود التحليل وبالتالي تكون قيمة retention time له كبيرة أما اذا كان مركب له قيمة معامل توزيع صغيرة فان ذلك يعني أن المركب يترك الوجه الثابت بسرعة لأنه يميل للتواجد مع الوجه المتحرك وبالتالي تكون قيمة retention time له صغيرة.

ولذلك اذا اراد القائم بالتحليل أن يفصل مركبين متشابهين في قيمة زمن الاحتباس فان عليه أن يغير الوجه المتحرك أو الوجه الثابت أو درجة الحرارة التي يتم عليها الفصل ، وفي التحليل الكروماتوجرافي بالغاز فان الوجه المتحرك عبارة عن غاز النتروجين أو هيدروجين أو هليوم وعلى ذلك فان خصائص الوجه المتحرك هنا بالنسبة لعملية التوزيع متشابهة ولذلك يمكن هنا الاعتماد فقط على تغيير الوجه الثابت أو درجة الحرارة ، أما في حالة التحليل الكروماتوجرافي بالسائل فانه يمكن تغيير كل من الوجه المتحرك والثابت ولكن تغيير درجة الحرارة محدودة جدا.

وفي التحليل الكروماتوجرافي بالغاز gas chromatography فان الغاز هو الوجه المتحرك mobile phase حيث يقوم بحمل المادة المراد تحليلها ويتحرك بها خلال عمود التحليل ويسمى carrier gas بينما الوجه الثابت stationary phase يمكن أن يكون سائل وفي هذه الحالة يسمى الجهاز gas liquid chromatography (GLC) وقد يكون الوجه الثابت صلب ، وفي هذه الحالة يسمى الجهاز gas solid chromatography (GSC) ويعتمد استخدام أي منهما على مجرد تغيير عمود التحليل بينما تظل مكونات الجهاز كما هي بدون تغيير ، أي أن الذي يتغير فقط هو نمط عملية الفصل هل تعتمد على اعادة توزيع المادة المراد تحليلها بين الوجه الغازي والوجه السائل partitioning أم أنها تعتمد على ادمصاص المادة المراد تحليلها على الوجه الصلب adsorption ، ويعتبر النوع الأول GLC والذي يعتمد على اعادة التوزيع هو الأكثر انتشارا وشيوعا في التحليل الكروماتوجرافي بالغاز.

التحليل الكروماتوجرافي بالغاز Gas- Liquid Chromatography

ويتم هنا فصل المركبات عن طريق اعادة توزيعها بين الغاز والسائل ، ويعتمد زمن الاحتباس retention time على درجة تطاير المركبات مع الغاز وتداخلها مع الوجه السائل ، كلما كان تطاير المادة سريعا وتداخلها مع الوجه السائل ضئيل يكون خروجها من العمود سريعا ويكون زمن الاحتباس صغير جدا بالمقارنة بالمركبات الأقل تطايرا والأكثر تداخلا مع الوجه السائل ، وعموما يمكن تسخين عمود التحليل في مدى 50-300°C وذلك للإسراع من عملية التطاير وتقليل زمن الاحتباس. ولذلك يجب أن تكون المادة المراد

تحليلها قابلة للتطاير وكذلك ثابتة حراريا أي لاتتحطم عند درجات الحرارة المستخدمة في التحليل.

المركبات التي يمكن تحليلها باستخدام GLC

١- جميع الغازات all gases

٢- معظم المركبات العضوية الغير متأينة الصغيرة والمتوسطة الوزن الجزيئي (حتى ٢٥ ذرة كربون) سواء كانت صلبة أو سائلة non ionic, small and medium size compounds

٣- معظم المركبات العضوية المعدنية organometallic compounds

المركبات التي لا يمكن تحليلها باستخدام GLC

١. الأملاح العضوية والغير عضوية organic or inorganic salts

٢. الجزيئات الكبيرة الحجم macromolecules, synthetic or biological polymers

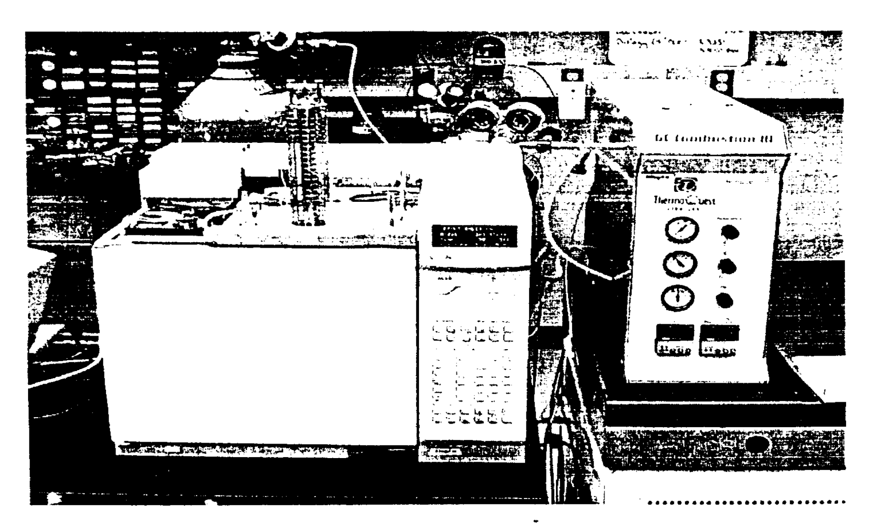
ومن المعروف أنه يمكن عمل تحويرات كيماوية chemical modification أو اشتقاقات كيماوية للمركبات chemical derivatization لتحسين خواصها لكي تصبح قابلة للتحليل بواسطة كروماتوجرافيا الغاز. أي أنه يمكن التعامل مع المركبات التي لا تصلح للتحليل الكروماتوجرافي الغازي على النحو التالي:

- تحوير المركبات القليلة التطاير لتصبح أكثر تطايرا
- تحوير المركبات العديمة أو القليلة الثبات حراريا الى مركبات أكثر ثباتا على درجات حرارة التحليل
- ربط مجموعة كيماوية متخصصة بالمركب المراد تحليله لكي يصبح قابل للكشف عنه بواسطة كشاف معين في كروماتوجرافيا الغاز.

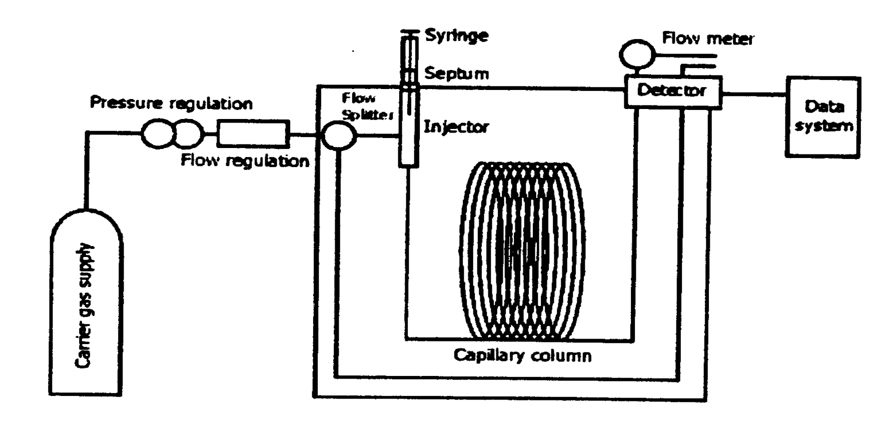
وسوف نتناول هذا الموضوع بالتفصيل بعد شرح التحليل الكروماتوجرافي الغازي والتحليل الكروماتوجرافي بالسائل وازدواج كل منهما مع مطياف الكتلة.

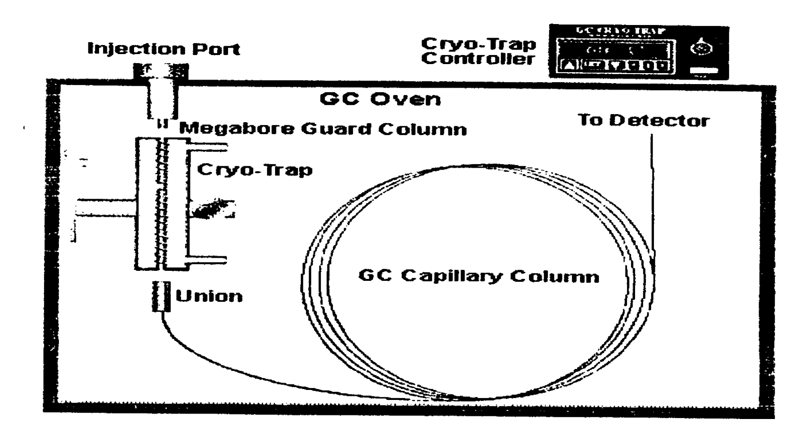
مكونات جهاز كروماتوجرافيا الغاز Instrumentation for GLC

من المعروف أن أقدم أجهزة التحليل الكروماتوجرافي الغازي تم انتاجها منذ عام ١٩٦٠ ومن وقتها ظلت المكونات الرئيسية لهذا الجهاز ثابتة ، ويوضح شكل (٧-١) جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز Gas Chromatograph ، كما يوضح الرسم التخطيطي في شكل (٧-٢) مكونات هذا الجهاز ، ويمكن ايجاز أهم مكونات جهاز GLC فيما يلي:



شكل (٧-١): جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالغاز GLC





شكل (٧-٢): مكونات جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالغاز Schematic diagram

١. اسطوانة الغاز الحامل Carrier gas tank

يوضع الغاز الحامل carrier gas سواء كان نيتروجين أو هيدروجين أو هليوم داخل اسطوانه معدنية مزودة بعدادين لقياس الضغط two pressure gauges ، حيث يقوم العداد الأول بقياس الضغط داخل الاسطوانة والثاني يستخدم لضبط الضغط المطلوب اجراء التحليل عليه. كما يوجد أيضا منظم لمرور الغاز flow controller لضبط معدل سريان الغاز في عمود التحليل.

مواصفات وأنواع الغاز الحامل carrier gas المستخدم في كروماتوجرافيا الغاز:

- يجب ان يكون خامل non reactive أي لا يتفاعل مع المادة المراد تحليلها.
- يجب ان يكون غير سام non toxic حيث أنه يمكن أن يحدث له تسريب في جو المعمل.
- يجب ان يكون غير قابل للاشتعال non flamable حيث يمكن اخراجه من نهاية الجهاز بدون مخاطرة على الشخص القائم بالتحليل.
- يجب ان يكون رخيص الثمن لتقليل تكاليف التحليل.

غاز النيتروجين Oxygen-free Nitrogen

من المعروف أن غاز النتروجين له وزن جزيئي كبير high moleculer weight وبالتالي يكون له قابلية تدفق أو انتشار بطيئة low diffusivity وبذلك سوف يحقق أعلى كفاءة في التشغيل highest optimum efficiency وهو الغاز الوحيد الذي يجمع هذه الميزات ولكن من أهم عيوبه أنه يحتوي على آثار من غاز الأكسيجين ولذلك يجب التأكد من خلوه من الأكسيجين أو امراره على مرشحات بها special catalytic O_2

غاز الهليوم Helium gas

هو الغاز البديل alternative gas للنتروجين ولكن من أهم عيوبه انه اغلى في الثمن بالمقارنة بالنتروجين more expensive كما أن وزنه الجزيئي صغير low molecular weight مما قد يسبب معدل انتشار سريع ٠

غاز الأرجون Argon gas

يمكن استخدام هذا الغاز خلال العمود الكروماتوجرافي كبديل للنتروجين والهليوم ولكن من أهم عيوبه أنه غالي الثمن جدا.

غاز الهيدروجين Hydrogen gas

من أخطر عيوبه أنه قابل للاشتعال بدرجة كبيرة واذا اختلط مع الهواء يمكن ان يحدث انفجار flammable and explosive كما انه يمكن أن يتفاعل مع العينة المراد تحليلها ويسبب لها هدرجة hydrogenation ولكنه على الجانب الآخر جيد الاستخدام مع كشاف Ni-ECD خاصة عند تحليل oils and PCBs والمركبات القليلة التطاير.

وهذه الغازات يمكن استخدامها بمعدل سريان عالي higher flow rates بدون أن يحدث فقد أو اقلال في كفاءة التحليل وذلك للآسراع من خروج المركبات والوصول الى زمن احتباس صغير shorter retention times ، واختيار الغاز يعتمد بصفة عامة على متطلبات العمود والكشاف لعملية الفصل الكروماتوجرافي.

وعادة يتم قياس معدل سريان الغاز الحامل خلال عمود التحليل عند نهاية الكشاف باستخدام مقياس فقاعة الصابون bubble-flowmeter (a soap film flowmeter) وهي ببساطة شديدة عبارة عن سحاحة مدرجة لها فتحة جانبية side-arm buret وفي نهايتها جزء زجاجي منتفخ bulb يعمل كمستودع يوضع به محلول صابون ويسمح للغاز بالدخول من الفتحة الجانبية ليدخل على سطح محلول الصابون فيأخذ فقاعة ويسير بها (شكل ٧-٢)، يتم حساب الزمن اللازم لمرور الفقاعة بين علامتين على السحاحة المدرجة ثم يتم التعويض في المعادلة الحسابية التالية:

$$F_{column} = F_{measured} \times T_{column} / T_{room} \times P_{outlet} - P_{HOH} / P_{outlet}$$

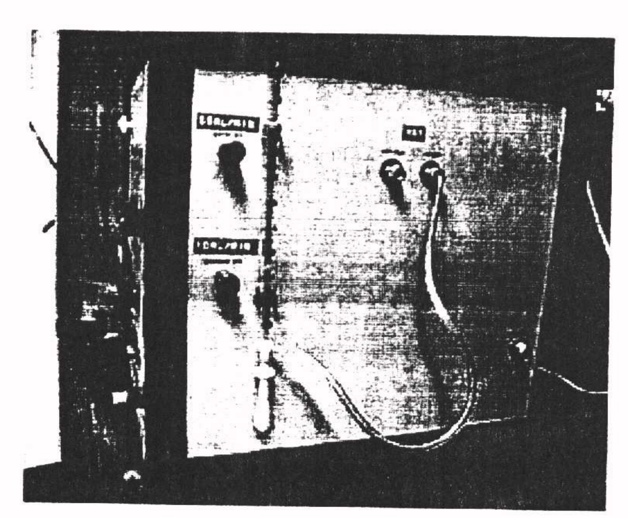
حيث:

F_{column} هي المعدل الحقيقي لسريان الغاز على درجة حرارة العمود

$F_{measured}$ هي حجم الغاز المقاس في زمن قدره دقيقة واحدة

T_{column} درجة حرارة العمود ، T_{room} درجة حرارة الغرفة ، P_{oulet} الضغط الجوي

P_{HOH} ضغط بخار الماء عند درجة حرارة قياس الفقاعة.



شكل (٧-٣): كيفية ضبط معدل سريان الغاز

٢. مرشح الغازات Filter

يجب تنقية الغاز قبل مروره على عمود التحليل وذلك بتمريره خلال سلسلة من المواد التي يدمص عليها الغاز series of gas adsorption أو أنابيب تجفيف drying tubes ويوجد مرشحات متاحة للاستخدام وتحتوي على فحم نشط activated carbon لازالة الشوائب العضوية من الغاز، كما يوجد في الأسواق أيضا مصائد لحجز الرطوبة وآثار غاز الأكسيجين الموجودة في الغاز الحامل وتسمى تلك المصائد drierite, or molecular sieve traps ، كما يوجد مواد خاصة للتعامل مع الأكسيجين الموجود في الغاز الحامل تسمى special catalytic O_2

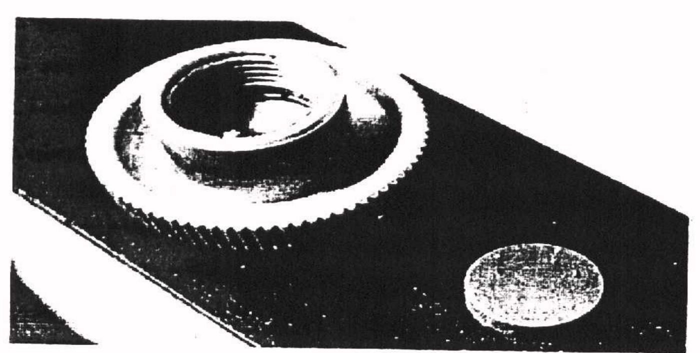
ويوضح شكل (٧-٤) مرشح الغازات gas purifier الذي يستخدم في عمليات تنقية الغازات قبل دخولها عمود التحليل.



شكل (٧-٤): مرشح الغازات Gas Purifier

٣. مكان حقن العينة Injection port

يتم تقديم العينة للتحليل من خلال مكان حقن العينة حيث توجد قطعة سدادة من المطاط rubber or elastomer تسمى septum (شكل ٧-٥)، حيث تحقن العينة بواسطة سرنجة رفيعة يتم ادخالها خلال قطعة المطاط ثم تحقن العينة ونخرج السرنجة من مكان الحقن فتعود قطعة السدادة المطاط الى حالتها الأولى sealed وتعتبر السدادة المطاط septum مصدر من المشاكل في التحليل operational problems على أساس أن تكرار الحقن ممكن أن يؤدي الى قطع السدادة المطاط وبالتالي حدوث تسرب في الغاز الحامل leak ، كما أن بعض من المركبات التي يتم حقنها يمكن أن تدمص adsorbedأو يمكن أن تتبقى على السدادة المطاط من الداخل deposited مع تكرار عمليات التحليل، وعند رفع درجة حرارة العمود أثناء التحليل في مرات متتالية بعد ذلك تتحرر release تلك المركبات وتظهر في التحليل مما يعطي نتائج مضللة .وكذلك يمكن أن تحتوي السدادة المطاط على مواد بلاستيكية أو مواد متطايرة plasticisers and volatile monomer يحدث لها خروج أو تحرر بنفس الطريقة عند رفع درجة الحرارة أثناء التشغيل ، وعلى ذلك لابد أن تكون السدادة المطاط مصنوعة من نوع جيد وكذلك تتحمل درجات الحرارة العالية High-temperature grade septum with low bleed rate



شكل (٧-٥): شكل السدادة المطاطية التى توضع داخل الحاقن Septum

وللتغلب على تلك المشاكل فان بعض الأجهزة مصممة على أساس أن يدفع جزء من الغاز الحامل كل فترة تشغيل أسفل السدادة المطاط لعمل تنظيف لها ، وعند استخدام عمود تحليل معبأ يدويا packed column يوضع بين مكان حقن العينة والعمود أنبوبة زجاجية قصيرة insert glass tube لمسك المتبقيات الصلبة trapping the solid residues وتقليل تلوث العمود reduce column contamination وتقليل عملية تحطم العينة reduce sample decomposition وحماية العمود من أن يصل سن السرنجة الى سطح الوجه الثابت prevent needle from reaching the stationary phase surface ، وهذه الأنبوبة الزجاجية يمكن تنظيفها بين كل تحليل وآخر أو استبدالها بأخرى نظيفة. أما في حالة الأعمدة الشعرية cappillary يستخدم في الحقن نظام يسمى تقسيم العينة splitting system

نظام حقن العينات Sample injection

الهدف من عملية الحقن هي تقديم العينة بطريقة سريعة الى تيار الغاز الحامل، والعينات يمكن أن تكون صلبة أو سائلة وتقدم للحقن بعد اذابتها أو تخفيفها في صورة محاليل باستخدام مذيبات متطايرة، وهذه المذيبات لا تحتجز على العمود بل تخرج بعد

الحقن مباشرة وتعطي peak مميزة معروفة للمذيب. وقد تكون العينات غازية فيتم تقديمها أو حقنها من خلال سرنجة محكمة جدا تسمى (µl 1000-50) gas-tight syringe ولكن المشكلة في العينات الغازية أن حجم الغاز يعتمد على ضغطه وبالتالي تكون هناك مشكلة في امكانية تكرار العينة للحصول على نفس النتيجة. ولذلك في حالة العينات الغازية يجب استخدام صمام يسمى بـ six-port sampling valve للحصول على نتائج متكررة وهي عبارة عن أنبوبة لها حجم معلوم تملأ بالعينة الغازية عند الضغط الجوي العادي وتحول مباشرة switched الى تيار الغاز الحامل.

الحقن في الأعمدة المعبأة packed column injection

الأعمدة المعبأة تحتوي على حبيبات صلبة من السليكا جيل أو الألومينا ومغلفة بغشاء رقيق من الوجه السائل الثابت وهنا يتم حقن العينة في حدود µl 10 - 1 من محلول العينة المخفف، بينما حقن أحجام كبيرة من السوائل النقية يسبب حمل على الكشاف أو العمود overload

ويتم الحقن على درجات حرارة عالية وذلك بتسخين منطقة الحقن heated injection zone حتى تتطاير العينة بسهولة ، ودائما تكون درجة حرارة منطقة الحقن أعلى من درجة حرارة عمود التحليل بحوالي 25-40°C وذلك للتأكد من التطاير السريع للعينة ، ويوضح شكل (٧-٦) طريقة الحقن في الأعمدة المعبأة.

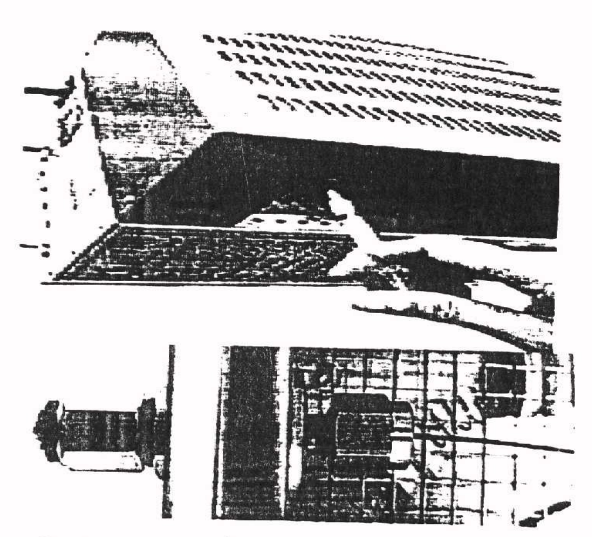
الحقن في الأعمدة الشعرية Open tubular (cappillary) column injection

يوضح شكل (٧-٧) نظام الحقن في الأعمدة الشعرية ، وبصفة عامة يوجد ثلاثة نظم للحقن في هذا النوع من الأعمدة وهي:

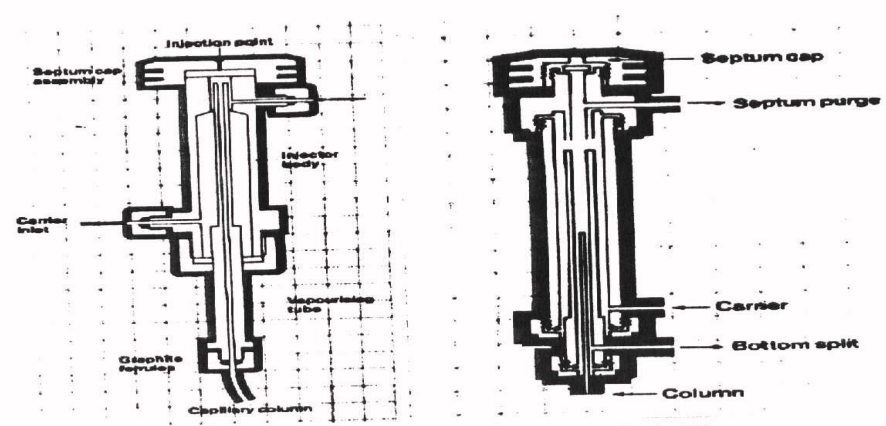
١. الحقن بتقسيم العينة split injection

وهذه تعتبر ابسط الطرق المستخدمة في الحقن في الأعمدة الشعرية وتعتبر نموذجية اذا كانت العينة تحتوي على عدد محدود من المكونات وليس المطلوب أن يكون التقدير الكمي على درجة عالية من الدقة ولكن مجرد عملية روتينية لتتبع المركبات ورصدها في العينات المختلفة. وهنا يتم تزويد منطقة الحقن بصمامين two valves أحدهما يعمل على دفع جزء من الغاز الحامل تحت السدادة المطاط ويسمى upper

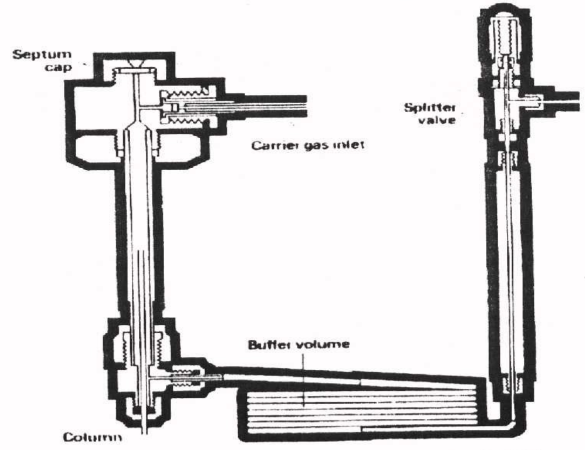
لكي يأخذ المركبات التي يمكن أن تفقد من السدادة septum purge (bleed) valve
المطاط وعادة يسمح بمعدل بطيء جدا من الغاز في حدود 2-5 ml / min أما الصمام الآخر
يأخذ الغاز الحامل من أسفل منطقة الحقن بالقرب من فتحة الدخول الى العمود ويسمى
lower valve يستخدم لضبط نسبة الغاز أي يوضع على split mode لكي يحدد النسبة
بين كمية الغاز التي تفقد في الهواء الجوي الى كمية الغاز التي تدخل العمود وتكون عادة
بنسبة ١٠ : ١ أو ٥٠٠ : ١ وبذلك نجد أن كمية ضئيلة جدا من العينة تدخل الى العمود.
وعادة يكون حجم العينة التي يتم حقنها بهذا النظام في حدود 0.5 – 0.1 (شكل ٧ ٨).



شكل (٧-٦): الحقن فى الأعمدة المعبأة Packed column



شكل (٧-٧): الحقن فى الأعمدة الشعرية Capillary column

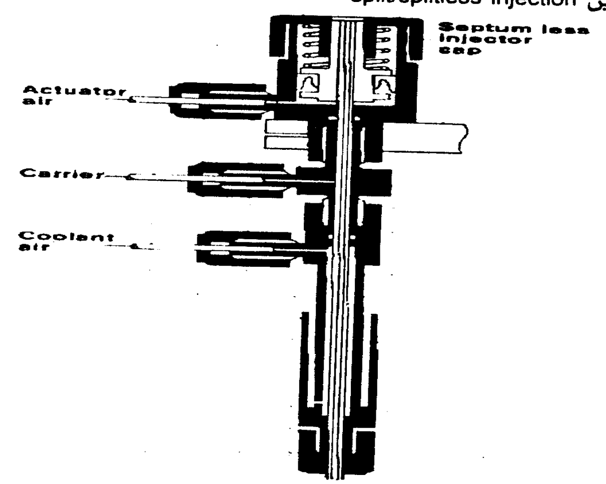


شكل (٧-٨): الحقن بتقسيم العينة Split injection

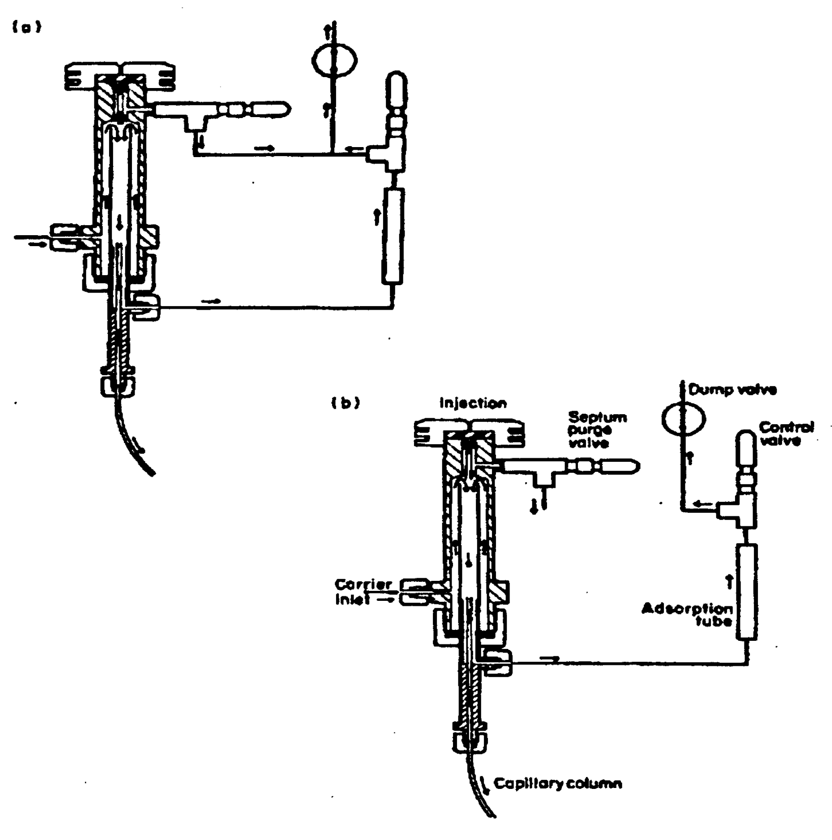
٢. الحقن بدون تقسيم العينة splitless injection

وهذا النظام في الحقن مناسب جدا للعينات التي تحتوي على تركيزات ضئيلة من المركبات وان المطلوب عمل تقدير كمي دقيق. وهنا يستخدم نفس الحاقن split / splitless injection port ولكن يكون العمود أوسع قليلا أو متوسط القطر (0.3 mn i.d. or greater) بالمقارنة بالنوع الأول من نظام الحقن (شكل ٧-٩).

وفي هذا النظام فان الصمام lower valve يغلق أثناء الحقن ويسمح فقط بتدفق ضئيل للغاز من الصمام الآخر upper septum purge (bleed) valve وعادة يكون حجم العينة التي يتم حقنها بهذا النظام كبيرة نسبيا في حدود 0.5 – 5 μl لأن تركيز العينات ضئيل ولا يزيد عن 50 ppm حتى لا يحدث تراكم على عمود التحليل. وهنا عملية الحقن خلال المنطقة الساخنة تستغرق حوالي ٢٠ ثانية وهي تكفي لنقل كل العينة التي تم حقنها الى العمود، وبعد حوالي ٤٠ — ٦٠ ثانية يتم فتح صمام lower valve لمدة ٢٠ — ٦٠ ثانية لغسل منطقة الحقن بالغاز ومنع أي متبقيات من العينة من أن تعمل تذيل tailing of the peaks ، ولكن هنا قد تظهر مشكلة اخرى بسبب طول فترة الحقن حيث قد يحدث اتساع للمنحنى band broading، ويوضح شكل (٧-١٠) استخدام نفس مكان الحقن على أي من النظامين split/splitless injection



شكل (٧- ٩): الحقن بدون تقسيم Splitless injection



شكل (٧- ١٠): نظام الحقن في Split / Splitless injector

شكل (٧-١٠): نظام الحقن فى Split / Splitless Injector

ولحل هذه المشكلة يمكن استخدام أحد الحلول التالية:

الأول: تبريد العمود cooling the column وذلك باستخدام ما يسمى cold trapping method وهنا يتم وضع العمود على درجة حرارة أقل من نقطة غليان المادة المراد تحليلها بحوالي 100-150 ^{o}C وبذلك يتم صيد المادة المراد تحليلها على قمة العمود ويخرج المذيب فقط من العمود ثم يتم رفع درجة حرارة العمود تدريجيا لتخرج المادة المراد تحليلها.

الثاني: استخدام مذيب معين Using solvent effect أو تسمى Grob method وهنا يستخدم مذيب له نقطة غليان مرتفعة نسبيا (bp. 126 ^{o}C) مثل مذيب الأوكتان ويتم وضع العمود على درجة حرارة أقل من نقطة غليان هذا المذيب بحوالي ١٠ — ٣٠ درجة وهنا يتكثف بخار المذيب على العمود ويكون طبقة سميكة على جدار العمود تزيد من sample capacity مما يساعد على اصطياد المادة المراد تحليلها على قمة العمود وبمجرد غسل منطقة الحقن بالغاز نبدأ في رفع درجة حرارة العمود تدريجيا لاتمام عملية الفصل.

ويوجد حاليا ما يسمى بنظام المبخر ذو درجة الحرارة المبرمجة programmed temperature vaporiser (PTV) system أو محقن مبرد cold split / splitless injector حيث يتم تبريد منطقة الحقن أثناء عملية الحقن ثم يتم بعد ذلك تسخينها سريعا لنقل العينة الى العمود المبرد قبل بداية برمجة الحرارة وهذه الطريقة مفيدة في تقليل تحطم العينة أثناء الحقن لأنها تحقن على درجات حرارة منخفضة.

٣. الحقن على العمود مباشرة on column injection

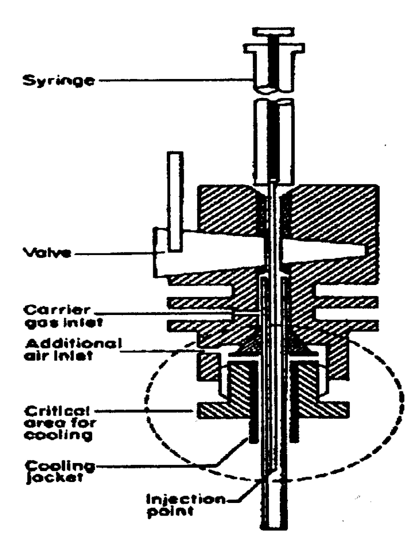
وهنا توضع العينة مباشرة على العمود في الوجه السائل دون الحاجة الى تبخيرها أولا وبذلك نتغلب على مشكلة تحطم وفقد العينة وتعتبر هذه الطريقة أيضا مناسبة للعينات الضئيلة التركيز جدا والتي تكون في حدود 0.01 – 300 ppm وهنا يحتوي مكان الحقن على صمام valve بدلا من سدادة مطاطية عادية septum لمنع تسرب العينة ويتم الحقن بواسطة ابرة شعرية دقيقة جدا من مادة الكوارتز

very fine quartz capillary needle داخل عمود قطره الداخلي حوالي 0.25 mm (شكل ٧-١١).

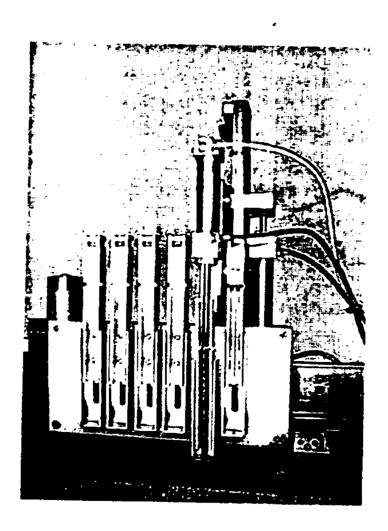
وهنا يتم تبريد قمة العمود الى درجة أقل من درجة غليان المذيب بحوالي ١٠ — ٢٠ درجة بواسطة تيار خارجي من الهواء البارد external cooled air flow ويتم حقن العينة بسرعة لتكون غشاء سائل على الجدار الداخلي للعمود ثم يتم رفع درجة الحرارة تدريجيا لفصل المذيب والمركبات.

الحقن الأوتوماتيكي automatic injection

يتم الحقن الأوتوماتيكي اذا كان لدينا عدد كبير من العينات حيث يتم برمجة الحاقن ليأخذ العينة من وعاء العينات sample rack ويقوم بحقنها ، ويوضح شكل (٧-١٢) نظام الحقن بواسطة ستة سرنجات منفصلة عن بعضها six shooter auto injector



شكل (٧-١١): الحقن على العمود مباشرة on column injection



شكل (٧-١٢): نظام الحقن الأوتوماتيكى

Automatic injection Six Shooter Auto Injector

٤. الفرن Oven

وهنا يتم التحكم في درجة حرارة الفرن عن طريق تثبيته على درجة حرارة واحدة طوال فترة التحليل أو عمل نظام مبرمج لرفع درجة حرارة الفرن بالتدريج من بداية التشغيل حتى نهاية التشغيل ولذلك يطلق عليه temperature –controlled oven ، والجهاز مصمم على أن يوضع العمود داخل الفرن الكهربي. وبداخل الفرن توجد مروحة لتوزيع درجة الحرارة داخل الفرن لتشمل جميع أجزاء العمود (شكل ٧-١٣).

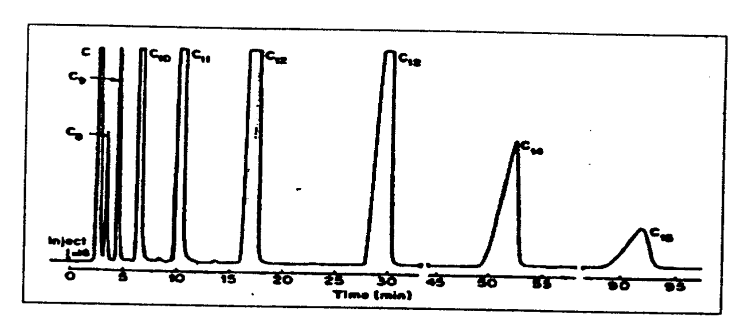
وقديما كان يستخدم high thermal mass لضمان ثبات الحرارة داخل الفرن ولكن حاليا يستخدم حمام هوائي دوار circulating air bath حيث يدفع الهواء من خلال مروحة فوق سخان fan over a heater وحول الفرن للتأكد من الخلط السريع.



شكل (٧-١٣): الفرن أو مكان وضع العمود Oven

عدم انتظام توزيع الحرارة داخل الفرن ولو حتى بدرجة ضئيلة يقلل من كفاءة التحليل ويسبب ما يسمىspikes on the peaks أو ما يسمى بتأثير شجرة عيد الميلاد Christmas tree effect حيث أن عدم انتظام توزيع الحرارة على العمود يسبب وجود مناطق مرتفعة الحرارة عن مناطق أخرى مما يسبب ظهور قمم ونتوءات في المنحنى.

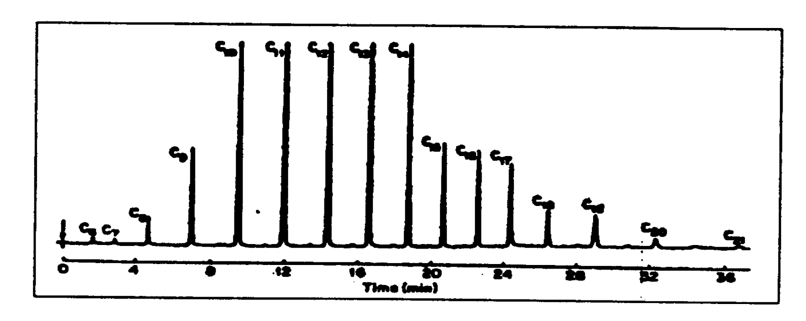
وفي حالة فصل العينات البسيطة يتم الفصل على درجة حرارة ثابتة isothermal conditions of constant temperature كما هو موضح في شكل (٧-١٤) وتستخدم هذه الطريقة أيضا عندما نريد تحديد زمن الاحتباس بدقة للتحليل الوصفي والتعرف على وجود مركبات معينة من عدمه لأنها يمكن ضبطها واعادتها مرات ومرات.



شكل (٧-١٤): الفصل الكروماتوجرافى على درجة حرارة ثابتة

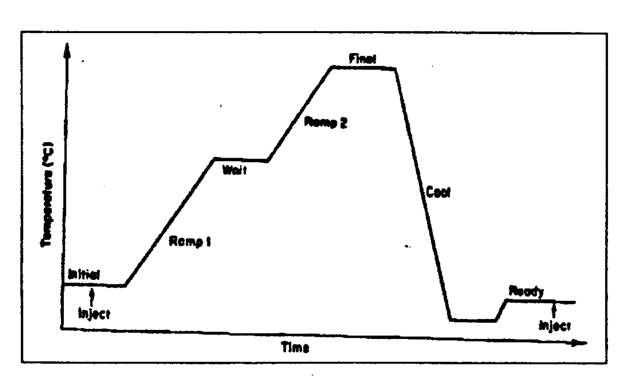
Isothermal separation of homologous series of alkanes

ولكن عندما يكون لدينا مركبات عديدة في مخلوط واحدة ولها درجات تطاير متقاربة وتم تحليلها على درجة حرارة واحدة عالية isothermally فان المكونات الأولى سوف تخرج سريعا بدون تمييز ولو تم التحليل على درجة حرارة منخفضة فان زمن الاحتباس سوف يكون طويل جدا ويعطي منحنيات عريضة. وعلى ذلك يتم هنا التحليل باستخدام نظام مبرمج لدرجة حرارة الفرن programminig conditions (شكل ٧-١٥) حيث نبدأ التحليل على درجة حرارة ابتدائية منخفضة ثابتة لفترة قصيرة initial isothermal temp ثم نرفع درجة الحرارة تدريجيا الى درجة متوسطة ونثبتها لفترة معينة intermediate fixed temp ثم يتم بعد ذلك رفع درجة الحرارة تدريجيا للوصول لدرجة الحرارة العظمى ونثبتها لفترة معينة final isothermal temp وبذلك يتم خروج المركبات السريعة التطاير أولا يليها المركبات المتوسطة ثم المركبات الأعلى وهكذا وفي النهاية يتم خفض درجة الحرارة مرة ثانية لدرجة أقل من الدرجة التي كان عليها عند نقطة البداية automated cooling-down لأعادة عملية الحقن مرة ثانية وهكذا ، ونظام برمجة درجة الحرارة يتميز بظهور منحنيات حادة sharp ويوضح شكل (٧-١٦) دورة درجة الحرارة المبرمجة.



شكل (٧-١٥): الفصل الكروماتوجرافى على نظام حرارة مبرمج

Temperature programmed separation of homologous series of alkanes



شكل (٧-١٦): دورة درجة الحرارة المبرمجة

Column oven programmed temperature cycle

٥. عمود التحليل **Analytical column**

يوجد نوعين من اعمدة التحليل في جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز ، النوع الأول هو الأعمدة المعبأة والتي يطلق عليها packed column، اما النوع الثاني فهو الأعمدة الشعرية والتي يطلق عليها open tubular (cappillary) columns (شكل ٧-١٧).

الأعمدة المعبأة packed columns

يتراوح طول هذه الأعمدة بين ١ – ٥ مترا ويبلغ قطرها الخارجي حوالي ٤ – ٦ مم وقطرها الداخلي من ٢ – ٣ مم ، ويوجد ثلاثة مكونات اساسية في هذا النوع من الأعمدة وهي جسم العمود column tubing والمادة الدعامية داخل العمود support material والوجه السائل الثابت liquid stationary phase

جسم العمود column tubing

تصنع مادة العمود من مادة خاملة كيماويا لتجنب تحطم المادة المراد تحليلها ، كما يجب ان تكون مادة العمود أيضا ثابتة حراريا اي لا تتأثر بالحرارة ويمكن تشكيلها على شكل حلزون coil أو حرف U حتى يمكن ادخال عمود يصل طوله الى ٥ مترات في حيز الفرن الصغير.

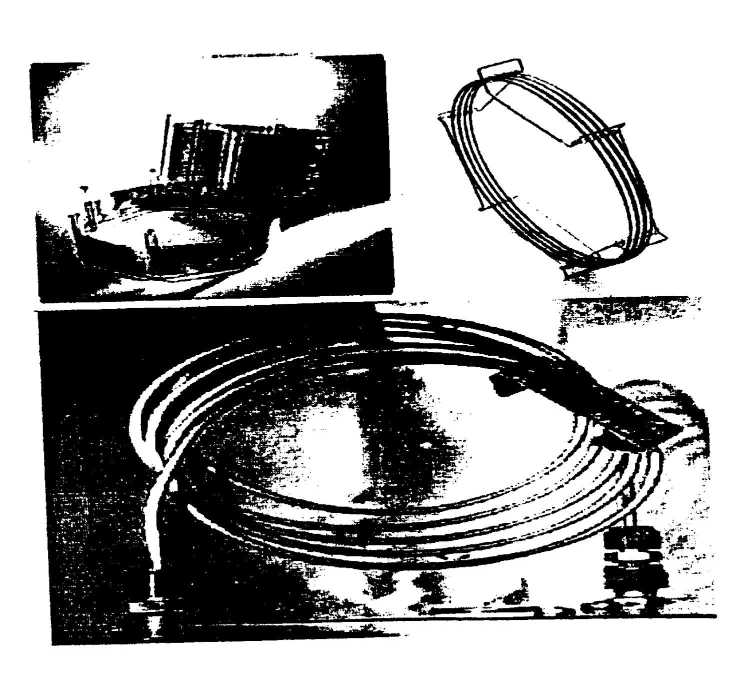
ويصنع العمود من النحاس أو الحديد الصلب أو الزجاج ، ويعتبر الزجاج أكثر شيوعا ولكن يجب معالجته كيماويا قبل الاستخدام بمادة ميثيل سيلان silanization لكي يتفاعل مع المجاميع الفعالة الموجودة على سطح الزجاج لجعل سطح الزجاج خامل كيماويا، ويجب تشكيل العمود حسب الشكل المطلوب قبل تعبأته.

المادة الدعامية للعمود support material

تستخدم مادة خاملة لعمل دعامة يملأ بها العمود لكي يحمل عليه الوجه الثابت السائل حيث تغلف كل حبيبة بفيلم رقيق من الوجه السائل الثابت مما يزيد من سطحه النوعي لضمان عملية اعادة توزيع جيد بين سطح الوجه الثابت الكبير وبين الغاز المتحرك عليه داخل العمود.

ويجب أن تكون المادة الدعامية غير فعالة وخاملة بالنسبة للمادة المراد تحليلها ولذلك يجب غسلها بالأحماض لازالة أي شوائب معدنية metallic impurities أو اي مجاميع قاعدية basic groups ثم معالجتها أيضا بمادة dimethyl dichloro silane (DMCS) وذلك قبل استعمالها.

$$\text{Si-OH} + (\text{Me})_2\,\text{Si}\,(\text{Cl})_2 \longrightarrow \text{Si-O-Si}\,(\text{Me})_2\text{-Cl} + \text{HCl}$$



شكل (٧-١٧): أعمدة التحليل المعبأة packed والشعرية capillary

وهكذا يتفاعل هذا المركب مع المجاميع الفعالة القطبية والنشطة أي يعمل deactivation لهذه المجاميع الموجودة على سطح المادة الدعامية أو على سطح زجاج العمود.

كما يجب ان تكون حبيباتها صغيرة 80-120 particle sizes ومنتظمة الشكل ومتجانسة حتى يكون العمود متجانس uniform ليعطي كفاءة عالية في التشغيل.

ومعظم المواد الدعامية عبارة عن سليكا silica ويوجد منها انواع عديدة مثل مجموعة chromosorbs والتي تشتمل على الأنواع P, W, G ولكل منها استخدام امثل.

- Chromosorb-P for hydrocarbons & moderate-polarity samples.
- Chromosorb-W or G for polar samples.

ويوضح جدول (٧-١) بعض المواد الدعامية solid support المستخدمة في التحليل الكروماتوجرافي ومساحة سطحها بعد تفتيتها واقصى كمية يمكن أن تتحملها من الوجه السائل ومميزات كل نوع عن الآخر.

جدول (٧-١): اللون ومساحة السطح واقصى تحميل لبعض المواد الدعامية solid support التي تستخدم في أعمدة التحليل الكروماتوجرافي.

Material	Colour	Packed density g/ml	Surface area m^2/g	Maximum liquid loading %
Chromosorb P	Pink	0.47	4.0	30
Chromosorb W	White	0.24	1.0	15
Chromosorb G	Gray	0.58	0.5	5
Chromosorb A	Preparative	0.48	2.7	25
Chromosorb T	Teflon	0.42	7.5	5
(Temp limit 250°C)				

الوجه السائل الثابت liquid stationary phase

يوجد عدد كبير جدا من المواد التي يمكن استخدامها في هذا الغرض وأهم الشروط التي يجب توافرها في المادة التي تستخدم كوجه ثابت سائل أن تكون ثابتة كيماويا chemically stable ولا تتفاعل مع المادة المراد تحليلها unreactive وأن تكون غير قابلة للتطاير involatile وثابتة لا تتحطم حراريا stable to thermal decomposition ويجب أن نعرف أن كل مادة من المواد المستخدمة كوجه ثابت سائل لها درجة حرارة عظمى لا يجب أن نتعداها في التحليل (maximum recommended temperature (MRT

أنواع الوجه الثابت السائل:

أولا: وجه غير قطبي Non polar liquid phase

وهو لا يحتوي على مجاميع فعالة يمكنها تكوين روابط هيدروجينية hydrogen bonding وليس لها عزم قطبي dipole-dipole interaction ولذلك يخرج المركب من العمود الكروماتوجرافي على حسب قدرته على التطاير.

ويمكن استخدام هذا النوع في تحليل المركبات المتوسط والعديمة القطبية، ومن أمثلة الوجه السائل الثابت غير القطبي:

* Dimethyl silicone liquid phases: SE-30, OV-1, OV-101
* Hydrocarbon phases: Squalane $C_{30}H_{62}$, Apiezon, Apolane (C_{87} hydrocarbon).

ثانيا: وجه قطبي Polar liquid phase

وهو يحتوي على مجاميع هالوجين أو هيدروكسيل أو كربونيل، وعند مرور مركب قطبي يحتوي على مجاميع فعالة سوف يتداخل مع هذا الوجه السائل بالمقارنة بالمركبات الغير قطبية وبالتالي يختلف زمن خروج كل منهما لأن خروج المركبات هنا يعتمد على أمرين هما درجة التطاير volatility والقطبية polar-polar interaction

ومن أمثلة هذا النوع:

1) Substituted silicone liquid phases:
OV-210, OV-202, OV-215 وهي تحتوي على مجاميع CF_3 ومجاميع CN

وهي لها ميل كبير للتداخل مع مجاميع الكربونيل والنيترو في المركبات المراد تحليلها.

2) Ester liquid phases:

Diethylene glycol succinate وهي تستخدم في حالة Diethylene glycol adipate, المركبات المتطايرة مثل الاسترات.

3) Polyether liquid phases:

Carbowax 20M وهو من أشهر الأوجه الثابتة السائلة التي تستخدم في تحليل المركبات القطبية والغير قطبية.

ثالثا: وجه خاص Special liquid phase

مثل الأوجه المستخدمة من حمض الكربوكسيليك carboxylic acid phases والمركبات القاعدية basic phases والأوجه التي تتحمل درجات الحرارة العالية High temperature phases ويوضح جدول (٧-٢) أنواع المواد الدعامية المستخدمة في الأعمدة المعبأة.

جدول(٧-٢): أنواع المادة الدعامية solid support وبعض خصائصها الطبيعية.

Solid Support	Physical properties
Molecular sieves 5 °A	Pore size 4-5 °A Separates O_2 and N_2 Carbon dioxide and water adsorbed
Molecular sieves 13 X	Pore size 8-10 A Separation of freons
Alumina	Retains unsaturated olefins
Silica gel	Retains carbon dioxide
Chromasil 310	Sulphur gases
Chromasil 330	$C_1 - C_3$, RSH and sulphur gases
Charcoal-based materials	
Carbosieve G (replaces B)	
Carbosieve SII (spherical)	Permanent and sulphur gases, nitrogen oxides
Spherocarb	15 A pore size
	$C_1 - C_4$, stack gases, SO_2, nitrogen oxides

ويوضح جدول (٧-٢) أنواع الوجه الثابت stationary liquid phases المستخدمة في كل من الأعمدة المعبأة والأعمدة الشعرية ومدى درجات الحرارة التي تستخدم عندها.

جدول (٧-٢)؛ أنواع الوجه السائل الثابت stationary liquid phases

Stationary liquid phase	Temperature range (°C)
Dimethylisilicone liquid phases -(- Si $(Me)_2$ – O -) – polymers:	
Liquid phases	
SE-30 Silicone gum rubber	50-350
MS 200/12500 Silicone fluid	20-250
OV-1 (gum)	100-350
OV-101 (fluid)	0-350
CP-Sil 5	50-350
SP-2100 (fluid)	0-350
Open-tubular bonded phases	
BP-1	-320
CP-Sil 5 CB	0-325
Durabond DB-1	-50-320
SPB-1	-60-350
Cyano-substituted dimethylsilicone liquid phases:	
Cyano-substituted dimethylsilicone	
Liquid phases	
XE-60	0-250
OV-105	20-250
OV-225	20-250
OV-275	20-275
OV-1701	20-235
CP-Sil 58	50-275
CP-Sil 71	50-275
CP-Sil 84	50-275
CP-Sil 88	55-240
SP-2340	25-275
SP-2330	25-250
SP-2300	25-275
SP-2310	25-275
Open-tubular bonded phases	
BP-10	-270
BP-15	-260
BP-75	-250
CP-Sil 19 CB	50-300
CP-Sil 43 CB Cyanopropyl methylphenyl silicone	50-225
Durabond DB-225	40-220

تابع جدول (٧-٢): أنواع الوجه السائل الثابت **stationary liquid phases**

Stationary liquid phase	Temperature range (°C)
Methylphenyl silicone	
Liquid phases	
SE-52	50-300
SE-54	50-300
CP-Sil 8	-25-350
DC 550	20-250
OV-3	0-350
OV-7	0-350
OV-11	0-350
OV-17	0-350
OV-22	0-300
OV-25	0-350
SP-2250	0-375
Open-tubular bonded phases	
BP-5	-320
CP-Sil 8 CD	-25-350
Durabond DB-5	-50-320
Dimethyldiphenyl silicone	
Liquid phase	
OV-61	0-350
OV-73	50-350
Open-tubular bonded phases	
SPB-5	-60-320
SPB-20	0-300
SPB-35	0-300
Ester stationary phases	
Monomeric Liquid phases	
Dinonyl phthalate	20-150
Didecyl phthalate	10-175
Polymeric Liquid phases	
Butane-1,4-diol succinate	50-200
Diethylene glycol succinate (DEGS)	20-200
Diethhylene glycol adipate (DEGA)	0-200
Reoplex 400 (polyester) (polypropyleneeglycol adipate)	20-220
Ethylene glycol adipate (EGA)	100-200
Ethylene glycol succinate	100-200

ويوضح جدول (٧-٤): الاسم التجاري trade mark والاختصارات abbreviation التي تطلق على المواد المختلفة المستخدمة كوجه ثابت.

جدول (٧-٤): الأسماء التجارية للأوجه السائلة الثابتة:

Abbreviation	Trade mark
BP	Scientific Glass Equipment bonded phases
CP	Chrompack
DC	Dow Corning
Durabond	J and W
OV	Ohio Valley
SE	General Electric
SP	Supelco
SPB	RSL Belgium/Alltech
Superox	RSL Belgium/Alltech

تعبأة العمود وتأهيله للأستخدام Column packing and testing

يتم تحضير العمود على مرحلتين:

١) تحضير الوجه الثابت السائل Preparing the stationany phase

يتم اذابة الوزن المطلوب من مادة الوجه السائل في مذيب عضوي مثل الميثانول او الأسيتون أو الكلوروفورم ويخلط جيدا مع وزنة مناسبة من المادة الدعامية ، وعادة نحصل على المادة الدعامية مغسولة بالأحماض ومعاملة بمادة ميثيل سيلان ، ويجب مراعاة أن بعض المذيبات العضوية غير مناسبة لبعض الأوجه الثابتة مثال المذيبات التي تحتوي على مجاميع كربونيلية (الأسيتون) تكون غير مناسبة مع مادة QF1، ويتم بعد ذلك وضع العجينة slurry التي تتكون من المذيب والمذاب والمادة المالئة في دورق التبخير الخاص بجهاز التبخير الدوار rotary evaporaor ويتم التخلص من المذيب حتى الحصول على مسحوق جاف بعد تمام توزيع الوجه الثابت على المادة الحاملة المالئة للعمود.

٢) تعبأة العمود Column packing

يتم تنظيف العمود ويتم عمل silanization للعمود قبل التعبئة وذلك بغمر أو ملأ العمود بمحلول dimethyl dichloro silane (DMCS) 1% مذابا في طولوين لمدة ١٠

دقائق ثم غسله بعد ذلك بالميثانول ثم الأسيتون ثم يجفف تماما. ثم يتم عمل تفريغ suction بواسطة مضخة خفيفة من احدى فتحتي العمود واضافة المسحوق المجهز في المرحلة الأولى من خلال الفتحة الأخرى للعمود مع عمل هزات خفيفة للعمود أثناء التعبئة لضمان تجانس التعبئة.

وبمجرد تعبأة العمود تزال مضخة التفريغ ويمرر الغاز الحامل الخامل خلال العمود بعد توصيله في الجهاز بعد التاكد من فك الوصلة بين العمود والكشاف لحين الانتهاء تماما من عملية التأهيل للعمود. ويكن استخدام صوف زجاجي silanised glass wool لسد فتحة العمود ثم يوضع العمود داخل الفرن ويتم رفع درجة الحرارة تدريجيا حتى الوصول الى درجة الحرارة العظمى والتي تتحملها المادة المالئة والوجه الثابت السائل لتأهيل العمود وهذه العملية تخلص العمود من اي متبقيات قابلة للتطاير وأي آثار للمذيبات المستخدمة حتى لا يحدث تلوث للكشاف عند توصيل العمود معه بعد ذلك وقد تستمر هذه العملية لمدة تصل الى ثلاثة أيام ثم يوصل بعدها العمود مع الكشاف ويصبح العمود جاهزا للتشغيل.

الأعمدة الشعرية cappillary columns

هذه الأعمدة ليس بها مادة دعامية ويحمل الوجه الثابت السائل على الجدار الداخلي لتلك الأعمدة الشعرية في صورة فيلم رقيق جدا لأنها اعمدة رفيعة جدا narrow-bore capillary tubingولذلك فان حجم العينة التي تحقن على هذا العمود يكون صغير جدا، وتصنع هذه الأعمدة من مادة borosilicate glass وهذه الأعمدة أكثر كفاءة في عملية الفصل بالمقارنة بالأعمدة المعبأة.

ولزيادة حجم العينة التي تحمل على هذا النوع من الأعمدة تستخدم اعمدة أوسع قليلا تسمى wide-bore columns (0.5 mm) حيث يتم تحميل الوجه الثابت السائل على طبقة رقيقة جدا من مادة دعامية خاملة diatomaceous support material يتم توزيعها على الجدار الداخلي للعمود.

وتم بعد ذلك استبدال زجاج البوروسيليكات الصلب rigid borosilicate glass بأعمدة من مصهور السليكا النقية أو من الكوارتز المرن.

وتتوافر هذه الأعمدة بأحجام وأطوال مختلفة حيث يتراوح طولها حوالي 5 – 50 m بينما يبلغ قطرها الداخلي من 0.1 – 0.75 mm ، كما أن سمك الوجه الثابت السائل داخلها يتراوح بين 0.1 – 5.0 µm

أما الوجه الثابت السائل فهو كما وضحنا في حالة الأعمدة المعبأة حيث يمكن استخدام نفس المادة في أي من النوعين ، ويوضح جدول (٧-٥) عملية المقارنة بين الأعمدة المعبأة والأعمدة الشعرية.

جدول (٧-٥): مقارنة بين الأعمدة المعبأة والأعمدة الشعرية:

Column dimentions	Film thickness	Column efficiency	Sample capacity (ng)
Open-tubular SE-30 columns			
0.25 mm x 60 m	0.35 µm	150,000	50-100
0.32 mm x 60 m	1 µm	126,000	400-500
0.50 mm x 60 m	1 µm	78,000	1000-2000
0.75 mm x 60 m	1 µm	49,000	10,000-15,000
Packed SE-30 columns			
2 mm x 2 m	10 %	4,000	20,000

كفاءة الفصل Separation efficiency

يتم مقارنة كفاء الفصل بين الأعمدة المختلفة بحساب عدد الأسطح النظرية للفصل number of theoritical plates على العمود

$$\text{Efficiency (N)} = (\text{Retention time, } t_R)^2 \;/\; (\text{Peak broadening } \sigma)^2$$

حيث أن اتساع المنحنى peak broadening هو الانحراف القياسي لزمن الاحتباس للمركبات.

وعمليا نجد أن كفاءة الفصل لها علاقة بعرض المنحنى عند قاعدته width of the peak at its base (W_b) أو عرضه عند منتصف ارتفاعه width of the peak at its half-height (W_h)

$$\text{Efficiency (N)} = 16\,(t_R\ /\ W_b)^2 = 5.54\,(t_R\ /\ W_h)^2$$

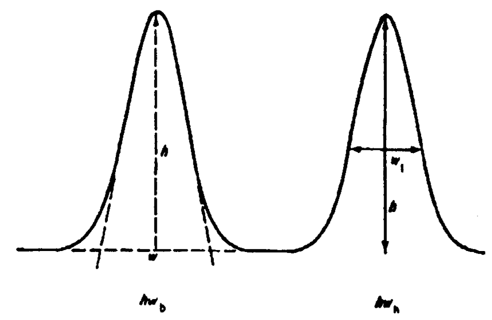
وكفاءة الفصل على أساس عدد الأسطح النظرية تكون أعلى في الأعمدة الشعرية بالمقارنة بالأعمدة المعبأة.

ويتراوح عدد الأسطح النظرية للفصل (N) في الأعمدة المعبأة بين 2,000 – 500 بينما يتراوح في الأعمدة الشعرية بين 100,000 – 30,000 ، ويوضح شكل (٧-١٨) كفاءة الفصل الكروماتوجرافي.

٦. الكشاف Detector

ويقوم الكشاف بالتعرف على المركبات وتقديرها كميا عن طريق اعطاء استجابة response في صورة اشارة signal تتناسب طرديا مع التركيز ثم تكبير هذه الاستجابة باستخدام مكبر amplifier وهو عادة يكون أنبوبة تكبير الأليكترونات وتسمى electron multiplier tube وفي بعض الكشافات تكون عبارة عن أنبوبة تكبير ضوئية photomultiplier tube ويجب أن نعرف أن استجابة الكشاف تختلف من مركب لآخر ، ويمكن قياس المنحنى الناتج عن هذه الاشارة أليكترونيا باستخدام وحدة تكامل integrator أو يدويا باستخدام مسجل مزود بقلم pen recorder ويتم حساب المساحة تحت المنحنى peak area اذا كان عريض ، أما اذا كان المنحنى حاد يتم حساب ارتفاع المنحنى peak hieght

Peak area = peak height x width at half-height (W_h).



Estimated measurement of peak areas. Area = W_b h/2 or more usually = W_h h

شكل (٧-١٨) كفاءة الفصل الكروماتوجرافى

الحساسية Sensitivity

يستدل على حساسية الكشاف في التقدير عن طريق معرفة كل من حدود الكشف وحدود التقدير.

حدود الكشف Detection limit

ويعرف على أنه أقل كمية من المادة المراد تحليلها تعطي منحنى أو اشارة لها ارتفاع peak hieght يساوي ضعف أو ثلاث مرات أكبر من ارتفاع اشارة noise level ، وأيضا يمكن تعريفه على انه أصغر منحنى أو اشارة يمكن تمييزها عن background noise

Limit of detection = 3 x hight of peak noise x peak concs / peak height

ويوضح شكل (٧-١٩) مستوى الشوشرة noise level

حدود التقدير Determination limit

ويعرف على أنه أصغر منحنى أو اشارة يمكن تقديرها كميا بثقة quantified with accuracy، ويعرف أيضا على انه أقل كمية من المادة المراد تحليلها تعطي منحنى أو اشارة لها ارتفاع peak hieght يساوي عشرة أضعاف ارتفاع اشارة noise level

الاختيارية Selectivity

هي اختلاف استجابة الكشاف لمركب عن آخر أو لمجموعة كيماوية عن مجموعة أخرى. مثال كشاف FPD يستجيب للمركبات المحتوية على فوسفور أو كبريت ولا يستجيب للمركبات المحتوية على هالوجين.

التخصصية Specificity

عندما يكون التمييز بين مركبات مختلفة على أساس وجود أو غياب مجاميع معينة أو عنصر معين. مثال ذلك ان كشاف ECD متخصص للمركبات المحتوية على هالوجين أو سيانيد بينما كشاف FPD متخصص للمركبات المحتوية على عنصر الفوسفور والكبريت أم كشاف AFID متخصص للمركبات المحتوية على فوسفور ونيتروجين.

الاستجابة الخطية Linear range response

وهي أنه توجد علاقة خطية طردية بين التركيز والاستجابة أي يزداد مثلا ارتفاع المنحنى مع زيادة التركيز . ولكن اذا حدث ثبات للاستجابة بالرغم من زيادة التركيز أو حدث انحناء للعلاقة الخطية نكون بذلك خارج المدى الخطي للتقدير.

وتحسب الاستجابة الخطية بأخذ المدى بين حدود التقدير determination limit حتى النقطة التي يحدث عندها انحراف عن العلاقة الخطية حوالي 5% (شكل ٧-٢٠).

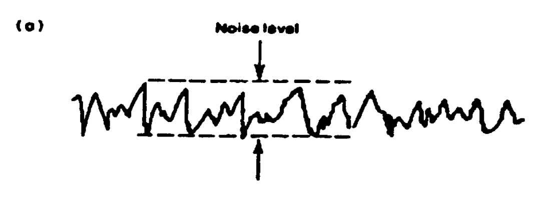
ومن أهم أنواع الكشافات المستخدمة في جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز ما يلي:

Universal detectors:

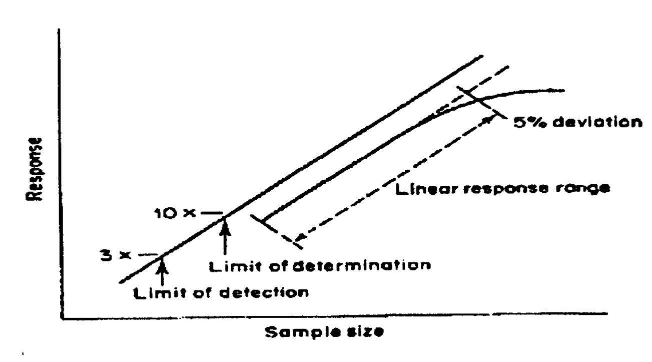
1. Thermal conductivity detector (TCD) or katharometer (hot – wire) detector
2. Flame ionization detector (FID)
3. Photo ionization detector (PID)

Selective detectors:

1. Electron capture detector (ECD)
2. Thermionic ionization detector (TID) or N/P detector or Alkali flame ionization detector (AFID)
3. Flame photometric detector (FPD)



شكل (٧-١٩): مستوى الشوشرة Noise level



شكل (٧-٢٠): الاستجابة الخطية للكشاف

كشاف التوصيل الحراري Thermal conductivity detector (TCD)

يعتبر كشاف التوصيل الحراري من أقدم الكشافات المستخدمة في التحليل الكروماتوجرافي الغازي ، وتعتمد فكرته على انه عند امرار غاز خامل على جسم ساخن فان هذا الجسم يفقد حرارته بمعدل يتوقف على تركيب هذا الغاز، ويكون معدل فقد الحرارة ثابت طالما أن التسخين مستمر وتركيبة الغاز أو مكوناته لم تتغير.

ويتكون هذا الكشاف من أربعة فتيلات filament مرتبة في شكل متوازي أضلاع بحيث يمر الغاز الخامل على فتيلتين متقابلتين والعينة المطلوب تقديرها تمر مع الغاز الخامل على الفتيلتين الأخرتين المتقابلتين وهذه الفتيلات الأربعة مسخنة كهربيا بنفس الدرجة وموصلة بدائرة كهربية تحتوي على مقاومة ثابتة لتسجيل الفرق في مقاومة التيار الكهربي electrical resistance بين طرفي الفتيلتين الموضوعة في تيار الغاز الخامل وحده والفتيلتين الموضوعتين في تيار الغاز المخلوط مع العينة المطلوب تقديرها.

وعند تشغيل الجهاز ومرور الغاز الخامل فان تركيب الغاز يكون ثابت لايتغير وبالتالي يكون معدل فقد حرارة الفتيلات المسخنة ثابت والمقاومة ثابتة وعند ادخال أو حقن العينة المطلوب تقديرها فانها تخلط مع الغاز ويتغير تركيب الغاز وبالتالي تتغير المقاومة والتي يمكن قياسها بواسطة قنطرة وينستون كما هو موضح بالرسم (شكل ٧-٢١).

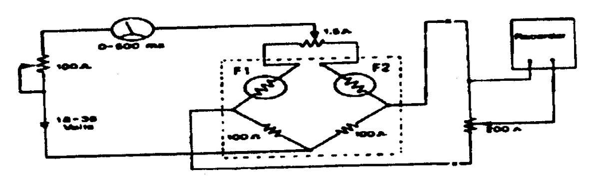
وحساسية هذا الكشاف تعتمد على مدى الفرق في التوصيل الحراري بين الغاز الخامل في غياب العينة ضد الغاز الخامل المحتوي على العينة أي أنه لابد أن يكون هذا الفرق كبير حتى يمكن تسجيله وتكون حساسية الكشاف عالية ، ولذلك يفضل استخدام الهيدروجين أو الهليوم كغاز خامل لأن لهما توصيل حراري عالي بينما لا يستخدم النتروجين كغاز حامل عند استخدام هذا الكشاف لأن توصيله الحراري مماثل لمعظم المركبات العضوية وبالتالي يكون احساسه بالتغير في التوصيل الحراري عند مرور مركب عضوي ضئيل. ويتميز هذا الكشاف بأنه عام universal لأنه يمكن أن يستخدم لتقدير أي مركب كميا.

Detector sensitivity = (Tc of gas + analyte) - (Tc of analyte)

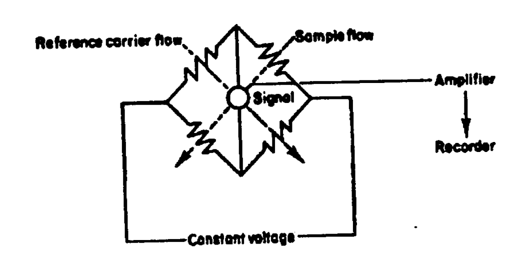
كشاف التأين باللهب Flame Ionization detector (FID)

بصفة عامة تتم عملية التأين للمركبات العضوية بثلاثة طرق:

- حرق المركب بواسطة لهب flame ناتج عن خلط غاز الهيدروجين مع الهواء .
- تأين المركب بواسطة ماد مشعة radioactive source مثل strontium-90
- تأين المركب العضوي باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (Deuterium lamp)

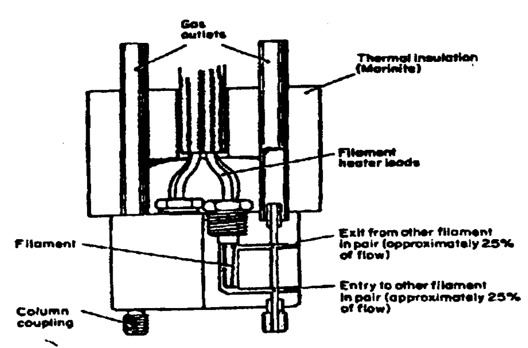


Princple of the thermal conductivity detector.



Wheatstone bridge circuit

Two filaments in the eluent stream from the column and two in areference carrier gas stream.



one of the four matched filaments.

شكل (٧-٢١): كشاف التوصيل الحرارى

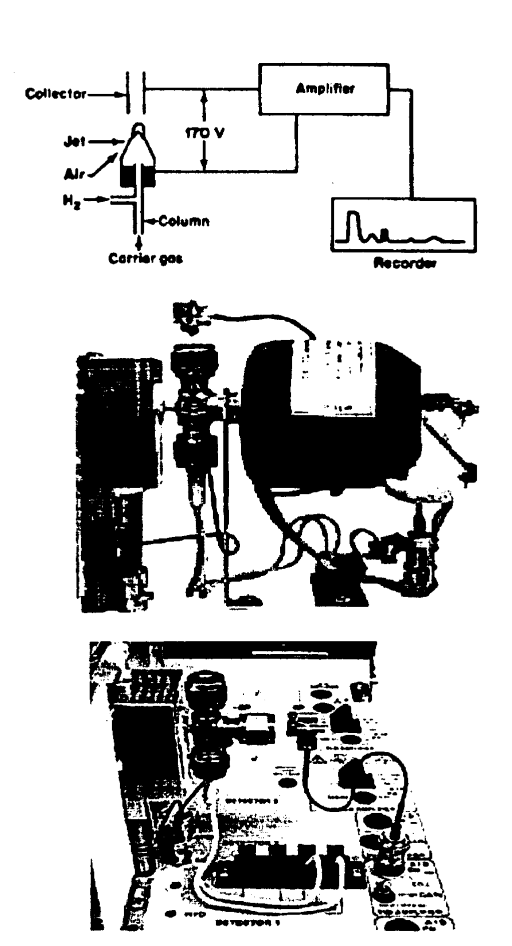
Thermal conductivity detector

وتعتمد فكرة عمل هذا الكشاف على تأين المركبات العضوية بواسطة اللهب الناتج عن خلط غاز الهيدروجين مع الهواء ، ويتم تقدير التأين في اللهب باستخدام فرق جهد 170 volt – 50 بين قمة اللهب jet وجامع الأيونات collector ثم يتم تكبير وتسجيل التيار الناتج عبر اللهب. وقد وجد أن التيار الناتج عن اللهب بعد خلط الهيدروجين والهواء H_2 : air flame يكون ضئيل ويساوي حوالي A 10^{-14} : 10^{-13} ولكن عند خروج المركبات العضوية مع هذا اللهب فان التيار يزداد ويصل الى حوالي 10^{-6} : 10^{-12} A ، وهذا الكشاف يعمل على أساس أن التوصيل الكهربي لغاز يتناسب مع تركيز الحبيبات المشحونة في الغاز وعلى ذلك فان الغاز يتأين بمعدل ثابت وعند دخول العينة مع الغاز فانها تتأين أيضا وبذلك يزداد التيار بمعدل يتناسب مع تركيز الأيونات في الغاز وهذا التغير في التيار يتم تسجيله. وهذا الكشاف حساس لجميع المركبات الهيدروكربونية لأنه يعتمد على الوزن الكلي للكربون والهيدروجين في المركب المراد تحليله ، وتقل حساسية هذا الكشاف كلما زادت نسبة الأكسيجين في المركب ، بينما تنعدم الحساسية في المركبات غير العضوية وكذلك المركبات المهلجنة كليا مثل رابع كلوريد الكربون. وتحت الظروف العادية فان هذا الكشاف يكون ثابت وحساس لمعظم المركبات العضوية وقيمة detection limit في حدود 10^{-12} gram per sample (g s^{-1}) ومن أهم عيوبه أنه يعتبر كشاف محطم للعينة destructive detector حيث يتم حرق العينة وبذلك لا يمكن استعادتها مرة أخرى ، كما أنه يحتاج الى ثلاثة غازات هي الهواء والهيدروجين والنتروجين (شكل ٧-٢٢).

كشاف التأين بالضوء Photo Ionization detector (PID)

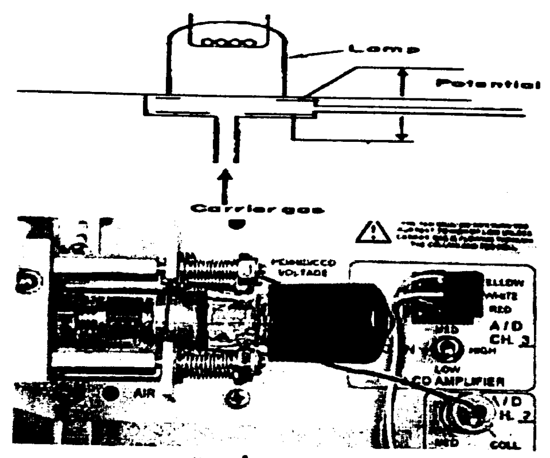
وهذا الكشاف مثل FID تماما ماعدا أن التأين لا يتم باللهب ولكن يتم بواسطة الضوء الصادر عن لمبة powerful lamp حيث يتم دخول المركب العضوي في حجرة مضاءة illuminated chamber فيحدث له تأين وهذا الكشاف حساس لمعظم المركبات العضوية كما هو الحال في الكشافات المعتمدة على التأين ولكننا نتوقع أن حساسية هذا الكشاف تكون أعلى للمركبات العطرية أو المحتوية على روابط غير مشبعة لأنها تمتص الأشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة (شكل ٧-٢٣).

$$R + h\nu \longrightarrow R^+ + e^-$$



شكل (٧-٢٢): كشاف التأين باللهب

FID – Flame Ionization Detector



شكل (٧-٢٣): كشاف التأين بالضوء

PID – Photo Ionization Detector

كشاف سحب الأليكترونات Electron capture detector (ECD)

هذا الكشاف يختلف عن كشافات التأين في أنه لا يحتاج الى لهب لأن عملية التأين هنا تتم بواسطة مصدر يشع جسيمات بيتا Beta emittor source مثل النيكل المشع ^{63}Ni أو التريتيوم المشع ^{3}H ولكن يفضل النيكل عن التريتيوم لعدة أسباب تتلخص فيما يلي:

- النيكل المشع له فترة نصف عمر أطول (85 years) من التريتيوم (12.5 years).
- الطاقة الناتجة عن جسيمات بيتا المنبعثة من النيكل المشع أكبر (0.067 Mev) من التريتيوم (0.018 Mev).
- الكشاف الذي يحتوي على النيكل المشع أكثر ثباتا (ثابت حتى ٣٥٠ درجة مئوية) من الكشاف الذي يحتوي على التريتيوم المشع.

$$\text{Carrier gas} + \beta^{-1} \xrightarrow{\text{ionization}} \text{carrier gas}^{+} + 2e^{-}$$

ويعتمد في فكرته على أن الغاز الحامل يتأين بواسطة المصدر المشع لجسيمات بيتا كما هو موضح في المعادلة السابقة ويعطي أليكترونات بمعدل ثابت ، وعند حقن أو ادخال مركب عضوي به مجموعة ساحبة للأليكترونات electron withdrawal group فانها

تسحب الأليكترونات الموجودة في الغاز وبالتالي يقل التيار بدرجة تتوقف على تركيز تلك المجاميع أو تركيز المركبات الحاملة لهذه المجاميع.

وعلى ذلك فان نقاوة الغاز الحامل carrier gas هنا تكون مهمة جدا لأن اي آثار من الرطوبة او الأكسيجين يمكن أن تسحب أليكترونات من الغاز ولذلك يفضل استخدام مولد generator لتوليد غاز النتروجين أو الهيدروجين كغاز حامل ، كما ان هذا الكشاف حساس للشوائب الموجودة في المركب المطلوب تحليله ولذلك عملية النقية clean up مهمة جدا وحتى يعتبر حساس للبخار الموجود في المعمل نتيجة تبخير بعض المذيبات مثل الكلوروفورم وكلوريد الميثيلين.

ومن المعروف أيضا أنه لا يمكن استخدام مذيبات بها هالوجين في اذابة العينات التي يتم تحليلها بواسطة كشاف ECD .
ويمكن تنظيف هذا الكشاف بتسخينه على درجة ٣٥٠ درجة مئوية.

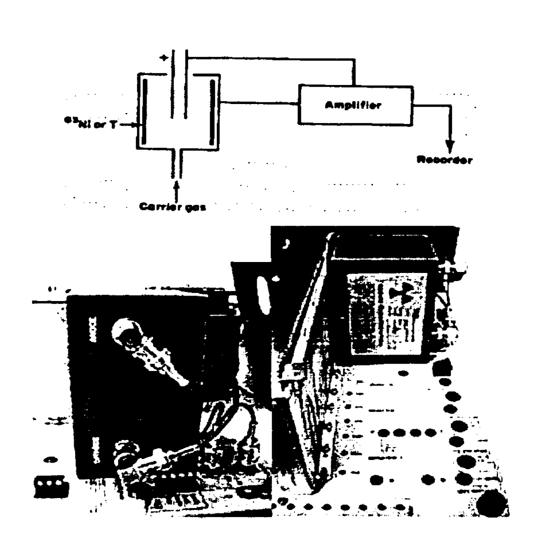
وهذا الكشاف حساس للمركبات الهالوجينية والمركبات العطرية والمركبات غير المشبعة والمركبات العضوية المعدنية organometallic compounds (شكل ٧-٢٤).

الكشاف الأيوني الحراري Thermionic ionization detector (TID)

وهذا الكشاف محور عن FID ليكون أعلى حساسية وخاصة للمركبات المحتوية على نتروجين وفوسفور وذلك بوضع خرزة alkali salt من مادة بروميد السيزيوم CsBr او كبريتيت الروبيديوم Rb_2SO_2 في اللهب ولذلك يطلق على هذا الكشاف أيضا alkali flame inonization detector (AFID) ونتيجة وجود تلك الخرزة تزيد من الاختيارية selectivity للمركبات الفوسفورية ٥٠٠٠ مرة مقارنة بالهيدروكربونات العادية ، كما تزيد الاختيارية للكشف عن النتروجين ٥٠ مرة أكثر من المركبات الهيروكربونية.

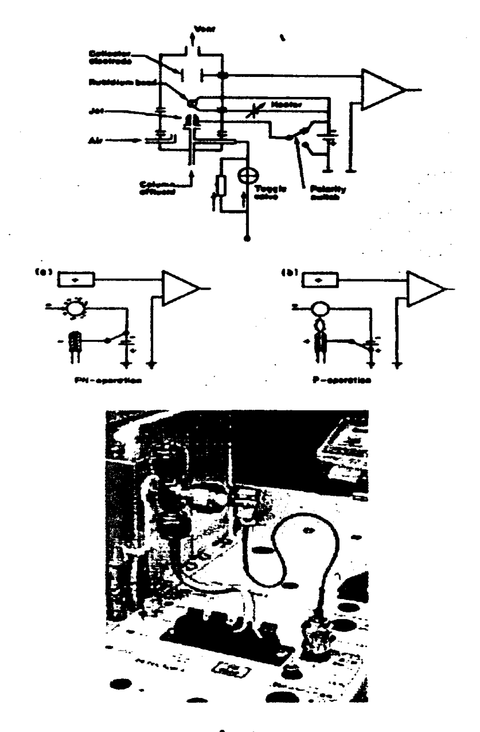
وفي الأجهزة الحديثة يستخدم alkali salt بوضعه حول قاعدة فتحة اللهب في FID أي بمثابة collar ولذلك يستخدم الكشاف لكل من FID & AFID ولذلك يكون الكشاف مصمم على أساس نوعين من اللهب أحدهما مخصص لكشاف FID والآخر مخصص لكشاف AFID ، في حالة اللهب المخصص لكشاف AFID وضع حديثا ceramic or silica

bead الى جانب الخرزة وهي تسخن كهربيا وعند امرار معدل بطيء من غاز الهيدروجين حوالي 1-2 ml/min فانه لا يكون كافيا لتكوين لهب ويسخن السيراميك كهربيا حتى الاحمرار وبذلك يكون الكشاف حساس لأي من الفوسفور أو النتروجين ، أما اذا سمحنا بمرور معدل عالي من الهيدروجين يكفي لتكوين لهب وفي نفس الوقت يسخن السيراميك كهربيا يكون الكشاف في هذه الحالة حساس للفوسفور فقط (شكل ٧-٢٥).



شكل (٧-٢٤): كشاف سحب الأليكترونات

ECD – Electron Capture Detector



شكل (٧-٢٥): الكشاف الأيونى الحرارى

TID - Thermionic Ionization Detector

(a)Nitrogen-phosphorus response with low hydrogen flow and electrically heated bead to give plasma around bead.
(b)Phosphorus compounds with higher hydrogen flow and bead heated by flame.

كشاف طيف اللهب Flame photometric detector (FPD)

يتم حرق المركب بخليط من غاز الهيدروجين والهواء فينبعث ضوء له لون معين نتيجة حرق هذا المركب وبكثافة ضوئية تتوقف على تركيز المركب العضوي ، ثم يتم قياس شدة هذا الضوء باستخدام أنابيب التكبير الضوئية photo multiplier tube (PMT) باستخدام فلتر مناسب لقياس الضوء الصادر عند طول موجة معين .

وهذا الكشاف مصمم لتقدير المركبات العضوية المحتوية على كبريت أو فوسفور فقط.

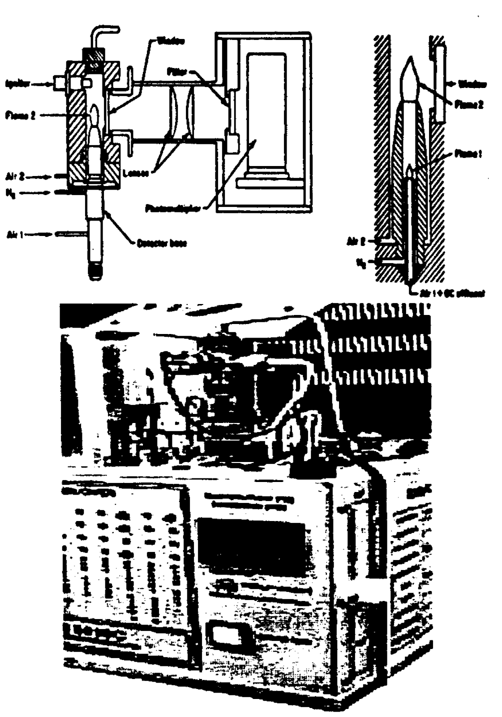
عند حرق المركب الفوسفوري فانه يتحطم الى مجاميع مثارة من $[HPO]^*$ وهذه المجاميع المثارة ينبعث عنها ضوء بطول موجة 526 nm لكي تعود الى حالة الاستقرار ولذلك يستخدم مرشح يمرر كل الموجات ماعدا الطول الموجي 526 nm يمتصها وبالتالي يتم قياس تركيز المركب الفوسفوري بعد حرقه.

وعند حرق المركبات الكبريتية تتحطم وينتج عنها جزيئات مثارة من الكبريت $[S_2]^*$ وهذه المجاميع ينبعث عنها ضوء بطول موجة 394 nm لكي تعود الى حالة الاستقرار ولذلك يستخدم مرشح يمرر كل الموجات ما عدا الطول الموجي 394 nm يمتصها وبالتالي يتم قياس تركيز المركبات الكبريتية بعد حرقها (شكل ٧-٢٦).

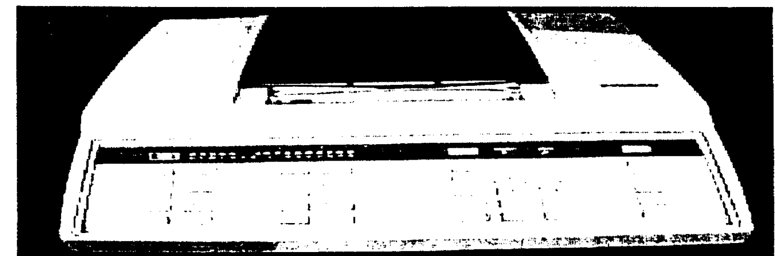
وحديثا يمكن استخدام كشاف انبعاثي general emission detector حيث تثار المركبات بواسطة microwave helium plasma torch وهذه العينة المثارة تعطي ضوء يمكن تحليله باستخدام منشور ثم قياسه للكشف عن النتروجين والهالوجينات والأكسيجين والكربون وغيرها.

٧- وحدة تسجيل النتائج recording device

وتستخدم وحدة تسجيل النتائج لرصد مكونات العينات بعد خروجها من عمود التحليل ومرورها على الكشاف وهي عبارة عن موتور يستجيب للتيار بعلاقة خطية linear motor responds to current (شكل ٧-٢٧) ، ويتم بعد ذلك حساب النتائج عن طريق قياس المساحة تحت المنحنى أو ارتفاع المنحنى ومقارنته بالتركيزات القياسية عند نفس قيمة زمن الخروج للمركب النقي والعينات المطلوب تحليلها.



شكل (٧-٢٦): كشاف طيف اللهب FPD – Flame Photomertric Detector



شكل (٧-٢٧): وحدة تسجيل النتائج Integrating Recorder

الفصل الثامن

جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل

High Pressure Liquid Chromatograph (HPLC)

مقدمة:

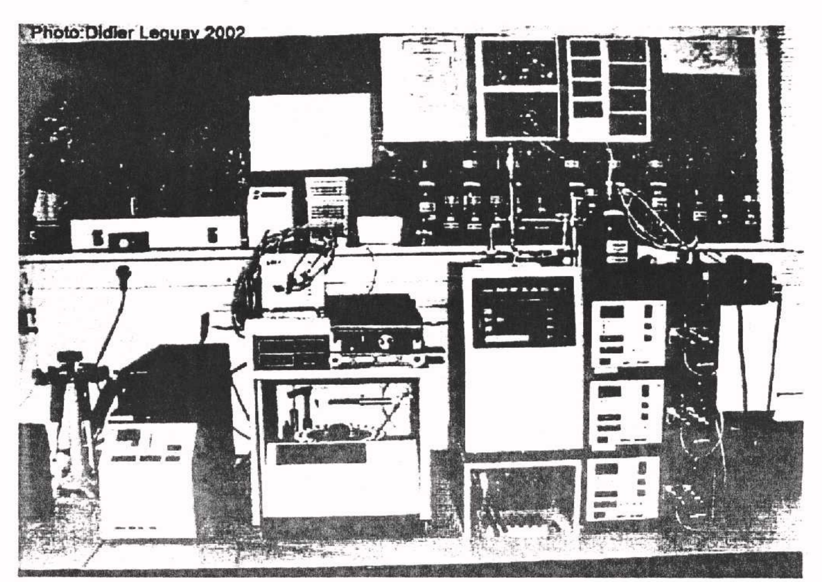
على الرغم من اشتراك كل من جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز GLC وجهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل HPLC في معظم الأسس التي يبنى عليه التحليل لأن كلاهما تحليل كروماتوجرافي الا أن هناك بعض الاختلافات الجوهرية بينهما وهي أن الوجه المتحرك في جهاز HPLC يكون سائل وليس غاز ، كما أن الوجه الغازي المتحرك في GLC يكون خاملا كيماويا، كما أن الضغط البخاري للمواد الكيماوية لايعتمد على طبيعة الغاز المستخدم ولكن في حالة HPLC نادرا مايكون الوجه السائل المتحرك خاملا ، كما أن ذائبية ومعامل توزيع المركبات المراد تحليلها هنا يعتمد على طبيعة المذيب المستخدم. كما ان الوجه السائل يمكن أن يدمص أو يذوب في الوجه الثابت مما يؤدي الى تغيير طبيعة الوجه الثابت من ناحية، ومن ناحية أخرى ينافس المذيب المادة الكيماوية المراد تحليلها على مراكز الادمصاص الموجودة على الوجه الثابت. وأخيرا يمكن القول أن الجهازين مكملان لبعضهما بمعنى أن العينات الغير متطايرة أو الغير ثابتة حراريا أو المركبات الأيونية والتي لا يستطيع GLC أن يقوم بتحليلها نجد أن HPLC يمكنه أن يقوم بتحليل تلك المركبات، ويوضح شكل (٨-١) جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل.

طرق الفصل في جهاز كروماتوجرافيا السائل

Chromatographic techniques

١- كروماتوجرافيا الادمصاص Liquid-solid chromatography (LSC)

يتم الفصل هنا على أساس الادمصاص حيث يدمص المذاب عل حبيبات السليكا جيل أو الألومينا المالئة لعمود التحليل الكروماتوجرافي وهذه الحبيبات أقل من ٢٠ ميكرون.



شكل (٨-١): جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل HPLC

٢- كروماتوجرافيا التوزيع Partition chromatography (PC)

وهنا يعاد توزيع المادة المراد تحليلها بين الوجه المتحرك والوجه الثابت والذي يكون في معظم أعمدة التحليل الكروماتوجرافي بالسائل عبارة عن Chemically bonded phase chromatography (BPC) وهنا في كروماتوجرافيا التوزيع يوجد نمطين أو طرازين من طرز اعادة التوزيع partitioninig modes وهما:

أولا: الوجه الكروماتوجرافي العادي Normal phase chromatography

وفى هذا النوع يكون الوجه المتحرك mobile phase أقل قطبية من الوجه الثابت Stationary phase ولذلك لا يمكن استخدام الماء ضمن الوجه المتحرك.

ثانيا: الوجه الكروماتوجرافي المعكوس Reversed phase chromatography

وفيه يكون الوجه المتحرك أكثر قطبية من الوجه الثابت ولذلك يمكن استخدام الماء ضمن مذيبات الوجه المتحرك..

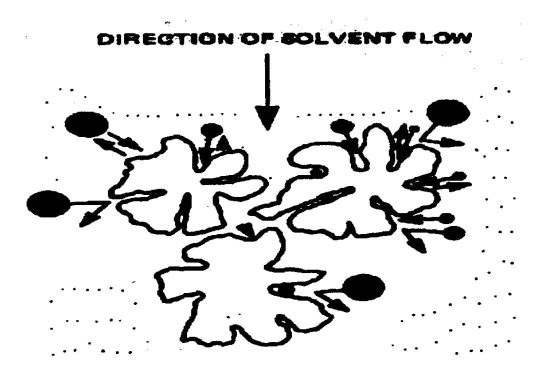
٣- كروماتوجرافيا التبادل الأيوني Ion-exchange chromatography (IEC)

وهذه الطريقة تستخدم مع المركبات العضوية المتأينة لأن الوجه الثابت في العمود هنا يكون عبارة عن مبادل أيوني ion-exchange على بوليمر رخو soft polymer وهنا يمكن فصل كل من الكاتيونات والأنيونات العضوية وغير العضوية. وهذه الأوجه الثابتة يمكن تجهيزها من بوليمرات صلبة rigidly crosslinked polymers وتغطى أسطحها اما بالأمينات الرباعية quaternary amines أو بالأحماض الكربوكسيلية carboxylic acids

٤- كروماتوجرافيا التمايز الحجمي Exclusion chromatography (EC)

على الرغم من أن فصل الجزيئات العضوية البيولوجية والبوليمرات المصنعة بالاعتماد على الحجم الجزيئي molecular size كان يتم باستخدام أعمدة الكروماتوجرافي السائل فان كروماتوجرافيا التمايز الحجمي بدأ يستخدم بخطوات بطيئة في التحليل الكروماتوجرافي بالسائل لأن مادة العمود كانت تصنع من بوليمرات طرية لا تتحمل الضغط العالي ومعدل السريان في جهاز HPLC ولكن بعد تطوير تلك الأعمدة الى مادة صلبة مسامية على أساس سليكا rigid porous matrices based on silica جعل من الامكان استخدام كروماتوجرافيا التمايز الحجمي باستخدام بوليمرات غير قطبية مصنعة مثل البلاستيك أو الراتنجات resins ، وحديثا استخدمت أعمدة جديدة من مواد السليكا المغطاة coated silica materials أو البوليمرات الشبكية الأكثر صلابة more rigid crosslinked polymers

وكروماتوجرافيا التمايز الحجمي يمكن أن يطلق عليها كروماتوجرافيا الجيل المنفذ gel permeation chromatography (GPC) أو كروماتوجرافيا الجيل المرشح gel filtration chromatography (GFC) وهنا نجد أن الجزيئات الكبيرة larger molecules تمر خلال العمود مع المذيب بدون أي اعتراض من المادة المالئة لأنها لا تستطيع أن تدخل في الفراغات أو المسام الموجودة بين حبيبات الجيل بينما الجزيئات الصغيرة smaller molecules تدخل الفراغات البينية ويتم حجزها هناك وذلك هو التمايز الحجمي حيث أن الجزيئات الكبيرة تمر من العمود بينما يتم حجز الجزيئات الصغيرة كما هو موضح في الشكل (٨-٢):



شكل (٨-٢): الفصل الكروماتوجرافى عن طريق التمايز الحجمى
Exclusion chromatography

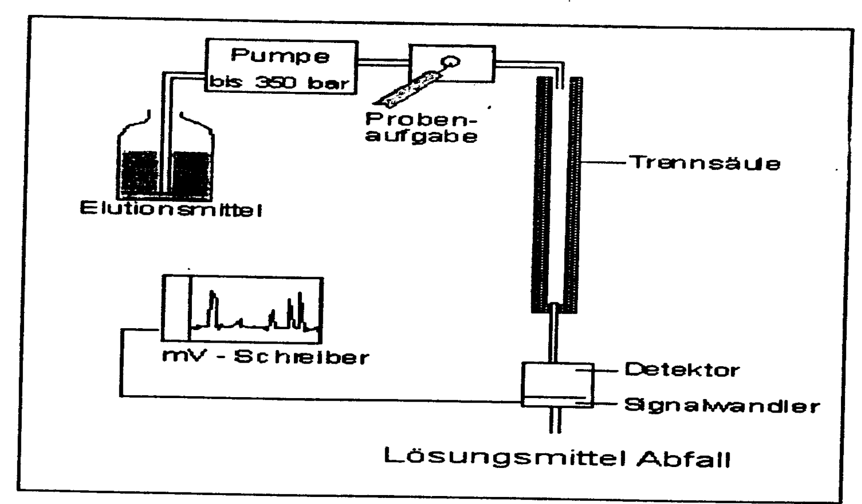
مكونات جهاز التحليل:

ان متطلبات جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل بسيطة حيث تتطلب خزان للمذيب solvent resrvoir ومضخة pump لسحب المذيب من الخزان ودفعه خلال العمود كما تتطلب حاقن injector لادخال العينة المراد تحليلها وعمود column لاجراء الفصل وأخيرا كشاف ومسجل detector & recorder لكشف المركبات المطلوب تحليلها وتسجيل النتائج المتحصل عليها.

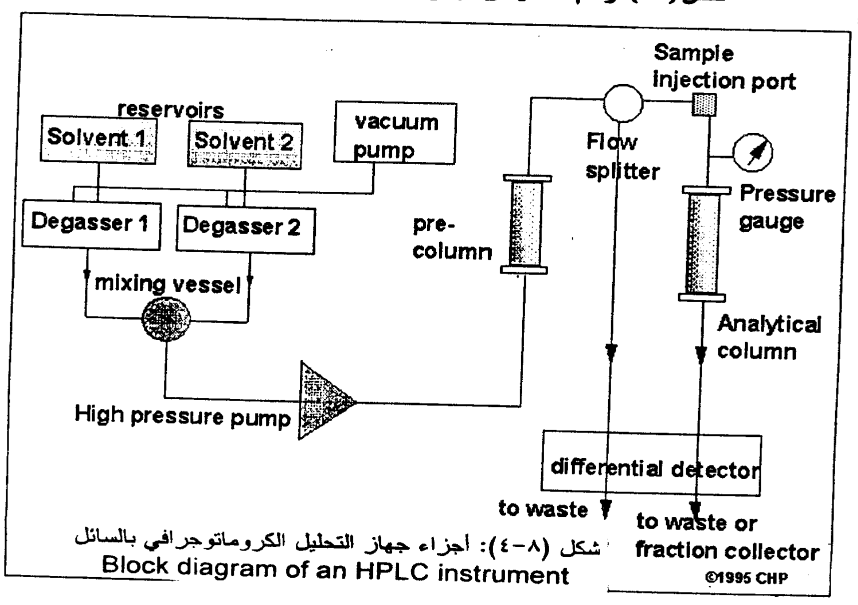
ومعظم مكونات الجهاز مصنعة من الصلب stainless steel أو التيفلون Teflon وذلك لتجنب تأثير المذيبات المستخدمة على مكونات الجهاز.

ويستعرض الشكل التخطيطى التالى Flow sheet ترتيب مكونات جهاز HPLC (شكل ٨-٣)

وكذلك يوضح شكل (٨-٤) الرسم التخطيطي block diagram لجهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل Liquid chromatograph



شكل (٨-٣): رسم تخطيطى لجهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل



شكل (٨-٤): أجزاء جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل

Block diagram of an HPLC instrument

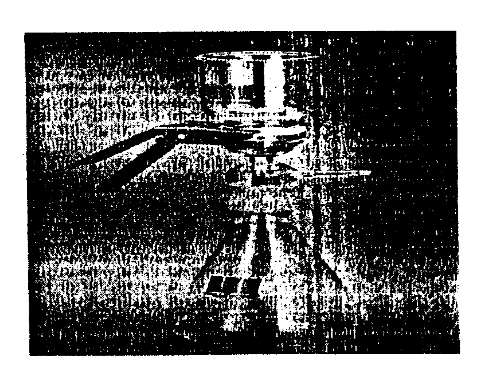
أولا: المذيـــب (Eluent (solvent

ان اختيار نوع المذيب المستخدم في عملية الفصل الكروماتوجرافي يعتمد على طبيعة العينة المراد تحليلها وكذلك يعتمد على نظام الفصل المستخدم في الجهاز هل هو النظام العادي أم النظام المعكوس.

نقاوة المذيب Eluent purity

يجب أن يكون المذيب المستخدم كوجه متحرك لازاحة المركبات المراد فصلها على درجة عالية جدا من النقاوة لإمكانية تكرار النتائج المتحصل عليها ، كما يجب أن يكون المذيب خاليا من الجزيئات الغير ذائبة insoluble particles ولذلك يجب ترشيحه باستخدام مرشح دقيق المسام millipore filter كما هو موضح فى شكل (٨-٥) قبل استخدامه للتخلص من هذه الجزيئات حتى لا تسد العمود أو تعوق سريان الوجه المتحرك أو تتفاعل مع المادة المراد تحليلها.

ويوجد أيضا الى جانب ذلك فلتر من المعدن sintered metal filter (2 or 5 μm) مغموراً فى المذيب ومتصلاً بالأنابيب أو الخراطيم الرفيعة وقبل سحب المذيب سحبه بواسطة المضخات ودفعه الى العمود يرشح وذلك لحجز أي أتربة dust او أي جزيئات صلبة أخرى physical impurities في المذيب.



شكل (٨-٥): مرشح دقيق المسام لترشيح المذيبات

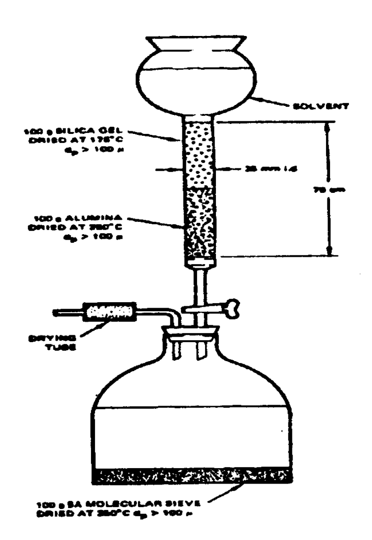
Sintered metal filter

ويوجد نوع آخر من الشوائب في المذيب يطلق عليها شوائب كيميائية chemical impurities وهي تمثل مشكلة كبيرة وخاصة عند استخدام نظام الفصل normal phase chromatography وهنا أي آثار من مواد قطبية وخاصة أي آثار من الماء يكون لها تأثير كبير جدا على عملية الفصل لأنها تعمل على تقليل النشاط السطحي deactivate لمادة عمود السليكا مما يغير من خصائص الاحتجاز retention properties وترتيب عملية ازاحة المركبات المفصولة. ولكن مثل هذه المشكلة لا تمثل أهمية كبيرة عند استخدام نظام الفصل ذو الوجه المعكوس reversed phase ولكن وجود مركبات عديمة القطبية بتركيز كبير في المذيب هنا في هذا النظام يمكن أن تمتص على الوجه الثابت في عمود التحليل مما يؤثر على نظام الاحتجاز والاختيارية selectivity and retention properties، ويوضح شكل(٨-٦) جهاز تنقية وتجفيف المذيبات المستخدمة فى جهاز HPLC.

كما أن خصائص عمود التحليل يمكن أن تتغير أيضا بفعل المذيب المستخدم في اذابة العينة المراد تحليلها اذا كان هذا المذيب أقوى stronger elution strength من المذيب المستخدم في عملية الازاحة كوجه متحرك ، ولذلك يفضل استخدام مذيب من نفس الوجه المتحرك لاذابة العينات أو مذيب أقل في القوة من الوجه المتحرك weaker elution strength.

ومعظم الشركات الآن توفر مذيبات مجهزة للاستخدام في جهاز HPLC وأيضا تكون مخصصة لقياس الامتصاص بواسطة الأشعة فوق البنفسجية وتسمى هذه المذيبات HP grade solvents

من المعروف ان اي مذيب يكون مشبع بالهواء على درجة الحرارة العادية وهذه لا تسبب اي مشكلة عند استخدام هذا المذيب كوجه متحرك لاجراء عملية الفصل ولكن أثناء سحب وضخ المذيب يمكن أن يخرج الهواء في صورة فقاعات bubbles عند مرور المذيب في خلية الكشاف detector cell مما يسبب ظهور قمم او نتوءات spikes اي سريان غير منتظم للمذيب ويتغير اشارة background signal ، ويمكن تقليل هذ التأثير بعمل تصميم جيد للخلية good cell design مثل وضع فتحة الخروج عند القمة exit at the top وبالتالي يتم ازالة الفقاعات بمجرد ظهورها.



شكل (٨-٦): طريقة عمل تنقية Purification وتجفيف drying للمذيبات

وهذه المشكلة تظهر بوضوح عند خلط الماء مع المذيبات العضوية في نظام الفصل المعكوس reversed-phase chromatography حيث يتغير ذائبية الهواء في مخلوط المذيبات ويصبح أقل من ذائبيته في كل مذيب على حدة وبالتالي يصبح تركيز الهواء في مخلوط المذيبات فوق التشبع وبالتالي يظهر الهواء في صورة فقاعات زائدة عن حاجة المخلوط.

ويجب أيضا التخلص من الهواء والغازات الموجودة في المذيبات المسخدمة في التحليل الكروماتوجرافي بالسائل وتسمى هذه العملية Eluent Degassing وخاصة اذا كنا سوف نقوم بخلط أكثر من مذيب أثناء عملية الفصل وعموما تتم عملية التخلص من الغازات Degassing بأكثر من طريقة:

١. ازالة الغازات عن طريق التفريغ Vacuum degassing

بعد تجهيز مخلوط المذيبات لاستخدامه كوجه متحرك بمعدل ثابت أو نسبة خلط ثابتة يتم خلطها قبل الاستخدام في جهاز HPLC يجب عمل تفريغ له بواسطة مضخة كما هو موضح بالشكل (٨-٧) لازالة الزيادة من الهواء أو الغازات التي نتجت بعد عملية خلط المذيبات وبالتالي يكون أي غاز موجود في هذا المخلوط بعد ذلك تحت أو عند التشبع و لا يسبب أي مشكلة أثناء ضخه كوجه متحرك.

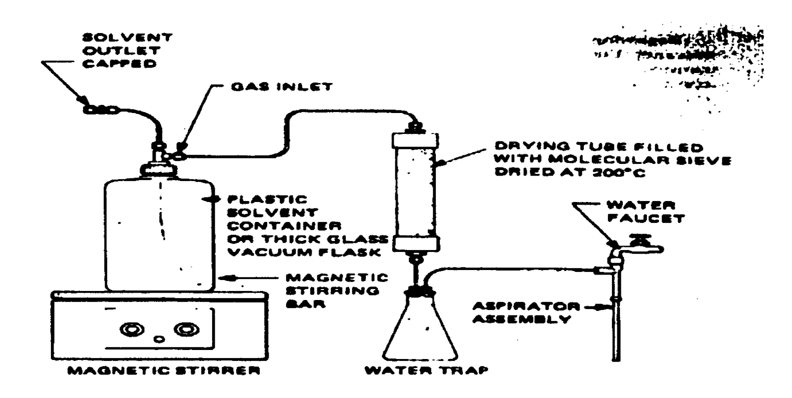
٢. ازالة الغازات عن طريق الغليان Degassing by boiling

وهنا يتم استخدام جهاز كالموضح بالشكل (٨-٨) حيث يتم غليان مخلوط المذيبات على سخان كهربي بعد وضعه في دورق مزود بمكثف عاكس ويتم عمل refluxing لمخلوط المذيبات ثم تركه يبرد بعد ذلك ويكون معدا للإستخدام.

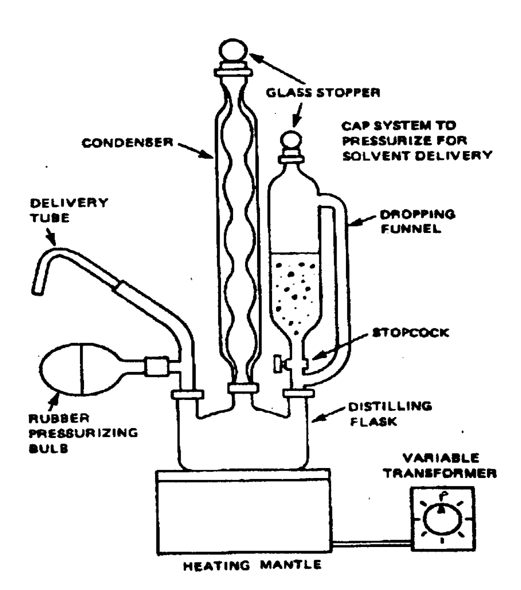
٣. ازالة الغازات بدفع تيار مستمر من الهليوم

Degassing by continuous Flowing of Helium

من أكثر طرق التخلص من الغازات شيوعا هي دفع تيار من غاز الهليوم bubble helium خلال المذيب من خلال مرشح sintered filter بمعدل بسيط ولكن مستمر مثلا 2cc / min حيث يعمل بمثابة غطاء blanket على سطح مخلوط المذيبات المستخدم كوجه متحرك ، ويقوم الهليوم بدفع الغازات الأخري (flushes (or sprags الموجودة في مخلوط المذيبات الى خارج المخلوط وهو نفسه قليل الذوبان جدا في هذه المذيبات حيث يعمل كسطح عازل بين سطح مخلوط المذيبات والفراغ الموجود في خزان المذيب وبالتالي لايمكن أن تعود تلك الغازات الى المذيب بعد طردها ويدخل المذيب الى العمود والكشاف خالي من الغازات ولذلك يمكن استخدام هذا النظام في التخلص من الغازات عند خلطها on line على الجهاز مباشرة.



شكل (٨-٧): طريقة إزالة الغازات من المذيبات عن طريق التفريغ Vacuum Degassing



شكل (٨-٨): طريقة غزالة الغازات من المذيبات عن طريق الغليان Degassing by Boiling

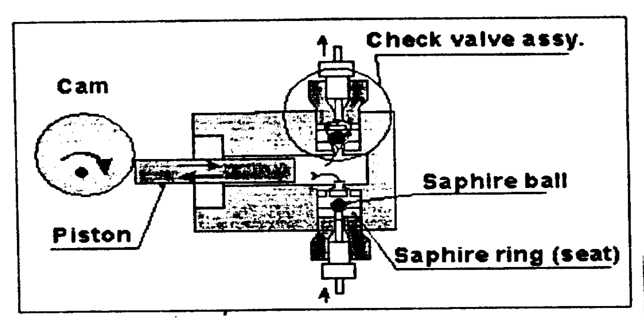
ثانيا: المضخات Pumps المستخدمة فى سحب وضع المذيبات

من المعروف أن الفرق بين اعمدة التحليل الكروماتوجرافي المفتوحة open column chromatography والأخرى المستخدمة في HPLC أن الأخيرة يكون فيها حبيبات المادة المدعمة للوجه الثابت صغيرة جدا لزيادة كفاءتها في الفصل كما انه تكون معبأة تحت ضغط عالي جدا ولذلك لايمكن ان يمر المذيب المستخدم في عملية الازاحة من خلال هذه الأعمدة بدون عملية سحب او ضخ بواسطة مضخة وتحت تفريغ ايضا pumped through the column under pressure وقد وجد انه عندما تكون حجم حبيبات المادة الصلبة المالئة للعمود في حدود ٣-١٠ ميكرون ومعدل سريان المذيب المطلوب في حدود 0.1-10 ml/min فاننا نحتاج مضخة تعمل تفريغ حتى 6000 psi (400 bar) ويمكن تحقيق ذلك باستخدام مضخة ترددية reciprocating pump أو غشائية diaphragm pump أومضخة حاقنة syringe pump

اولا: المضخات الترددية Reciprocating pumps

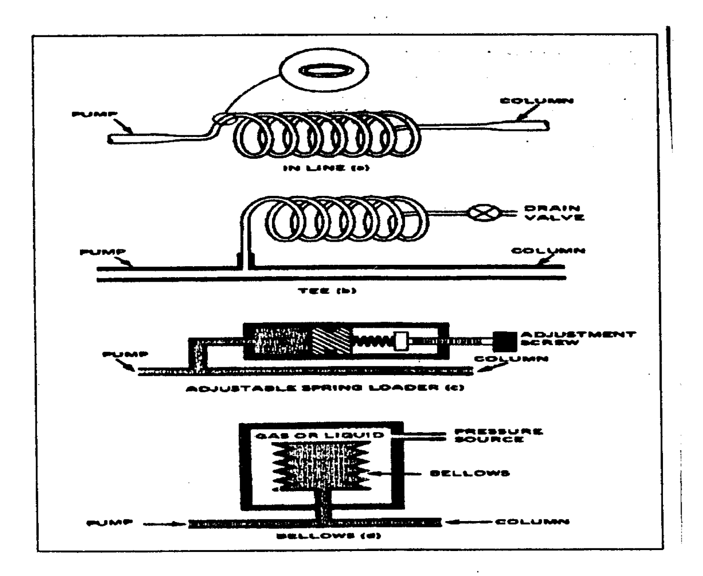
وهذه المضخة أكثر شيوعا في الاستخدام وهي عبارة عن مضخة برأس واحدة single-headed pump أو بغرفة واحدة تمتلىء بالمذيب ليصبح جاهزا للضخ في العمود كما هو موضح فى شكل (٨-٩)ولكن يعيبها أن معدل السريان يتوقف حتى تمتلىء غرفة المذيب pumping chamber مما يؤدي الى تذبذب سريان المذيب flow fluctuations ولكن يمكن التخلص من هذا التذبذب باستخدام كاتم للنبضات pulse damper الذي يعمل على تلطيف التغيرات البسيطة في معدل السريان. أنظر شكل (٨-١٠).

ويمكن أيضا الحصول على معدل سريان ثابت طوال التشغيل باستخدام مضخة ذات غرفتين dual-headed pump with two pistons out-of-phase احدهما تمتلىء بالمذيب بينما الأخرى تضخ المذيب وهكذا لا يتوقف السريان. شكل(٨-١١)



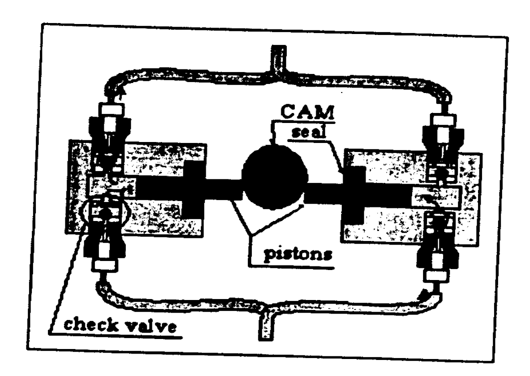
شكل (٨-٩): مضخة ترددية برأس واحدة

Single – headed reciprocating pump



شكل (٨-١٠): استخدام كاتم النبضات فى المضخة الترددية ذات الراس الواحدة

Pulse Dampers in single - headed reciprocating pump



شكل (٨-١١): مضخة ترددية برأسين
Dual – headed reciprocating pump

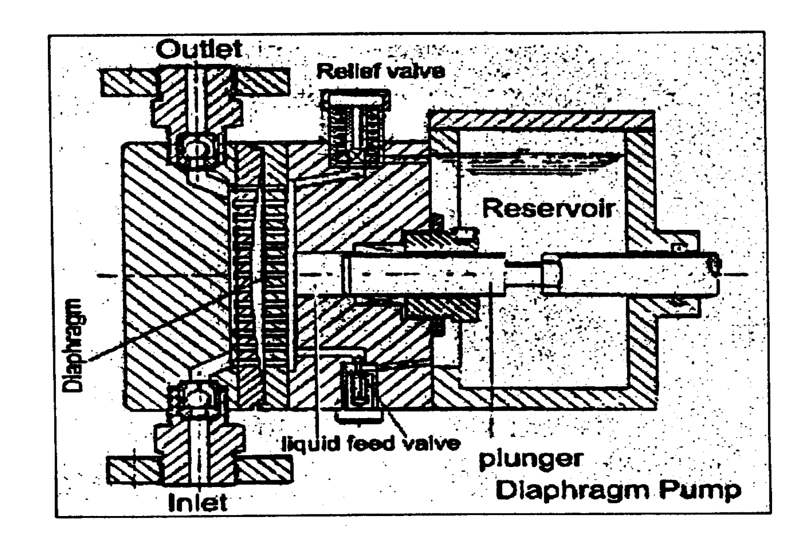
ثانيا: المضخات الغشائية Diaphragm pumps

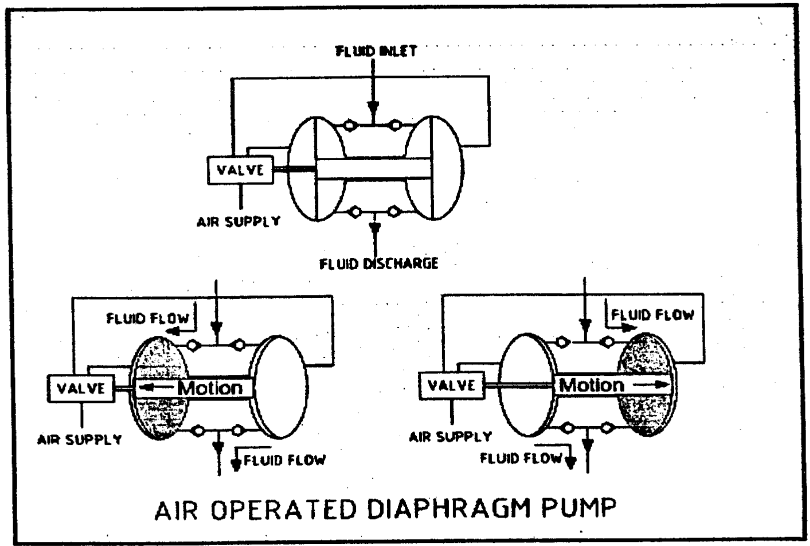
يدفع الغشاء المذيب الى المضخة بمعدل يكفي لمنع ظهور اي تردد أو عدم انتظام في سريان المذيب وهذا النوع من المضخات عادة يكون غالي الثمن ويستخدم مع الأنظمة المتكاملة في التحليل. ويوضح شكل (٨-١٢) المضخة الغشائية.

ثالثا: المضخات الحاقنة Syringe pumps

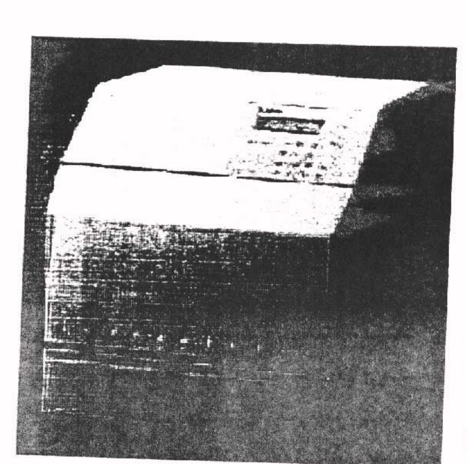
وهنا يوجد مكبس يعمل على خزان كبير للمذيبات لدفع المذيب كما يعمل المكبس داخل السرنجة ولذلك سميت هذه المضخات بهذا الاسم وهذا النوع من المضخات أيضا مرتفع الثمن ولذلك يفضل استبداله بالنوع الأبسط والأرخص وهو المضخات الترددية. ويوضح شكل (٨-١٣) المضخات الحاقنة.

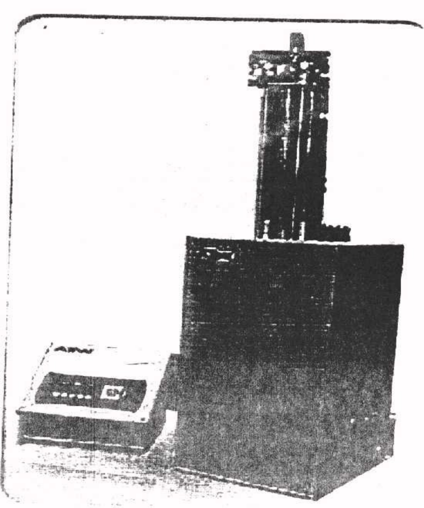
ويوضح شكل (٨-١٤) أن المضخات بصفة عامة تعمل فى نظام مذيب ثابت واحد او نسبة ثابتة طوال التحليل وتسمى isocratic pumps خلط مذيبات بنسب متغيرة طوال فترة التحليل وتسمى هذه المضخات gradient pumps



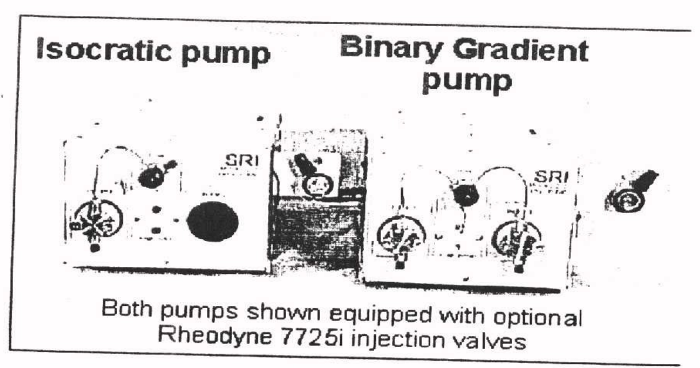


شكل (٨-١٢): المضخة الغشائية Diaphragm pump





شكل (٨-١٣): المضخة الحاقنة Syringe pumps



شكل (٨-١٤): مضخة نظام المذيب الثابت ونظام المذيبات بنسب متغيرة

Isocratic and gradient pumps

نظام الازاحة المبرمج في طريقة التحليل Programmed Elution

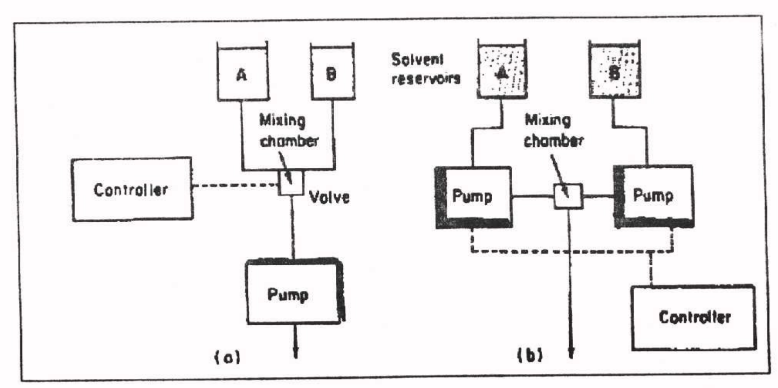
يوجد نظامان لخلط المذيبات وتغيير نسب الخلط في جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل كما هو موضح بشكل (٨-١٥)

١- الخلط عند ضغط منخفض Low-pressure mixing

وهنا يتم خلط المذيبات من خزانين أو أكثر للمذيبات باستخدام صمام valve يعمل على أزمنة مختلفة بحيث تسحب المضخة من مذيب معين لفترة زمنية معينة ثم تبدأ تسحب بعد ذلك من المذيب الثاني لفترة زمنية اخرى وهكذا وتغيير فتح وغلق الصمام valve timing يؤدي الى تغيير نسبة المذيب المأخوذة من كل خزان وبالتالي تغيير نسبة خلط المذيبات كلها. والمذيبات تذهب الى غرفة الخلط mixing chamber باستخدام مضخة واحدة single pump لكل المذيبات تعمل على معدل سريان ثابت.

٢- يسمى الخلط عند ضغط مرتفع High-pressure mixing

وهنا يتم استخدام مضخة واحدة لكل مذيب لسحب المذيب ونقله الى غرفة الخلط ولذلك تسمى هنا high pressure mixing، وعلى ذلك يكون هذا النوع أغلى في الثمن من النوع الأول الذي يستعاض فيه عن زيادة عدد المضخات بوجود صمام ينظم السحب بواسطة مضخة واحدة من كل مذيب.



شكل (٨-١٥): نظام خلط المذيبات المبرمج على ضغط منخفض أو عالى

(a) low – pressure mixing , (b) high – pressure mixing

ثالثا: نظم حقن العينات Sample injection systems

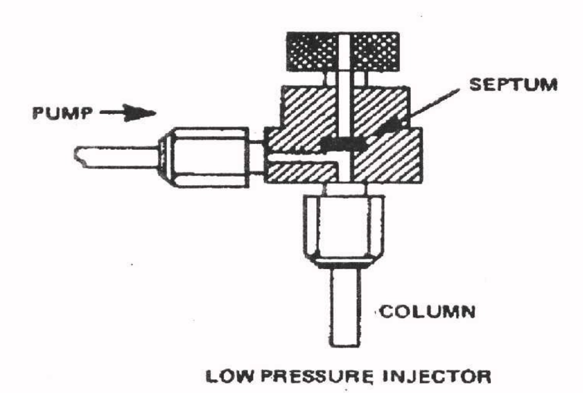
يوجد خمسة أنظمة لحقن العينات في التحليل الكروماتوجرافي بالسائل وهي:

نظام الحقن أثناء سريان المذيب Solvent flowing system

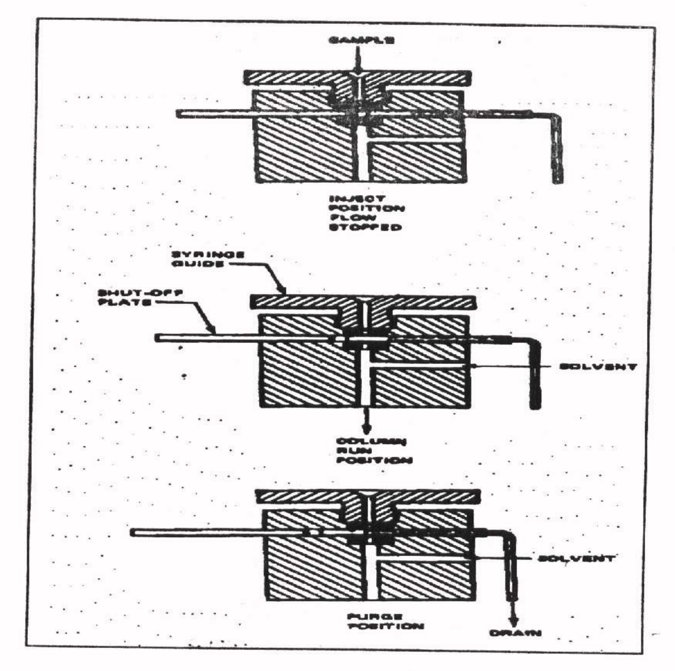
وهنا يكون الحقن مشابه لما يحدث في التحليل الكروماتوجرافي الغازي ولكنه أصبح غير مناسبا بعد زيادة الضغط على العمود بعد استخدام مواد مالئة صغيرة الحجم جدا. ويوضح شكل (٨-١٦) نظام الحقن أثناء سريان المذيب ولكن تحت ضغط منخفض low pressure injector حتى لا يحدث أى إضطراب فى سريان المذيب أثناء الحقن.

نظام الحقن عند توقف سريان المذيب Stop-flow injecting system

وهنا يتم ايقاف سريان المذيب أثناء عملية الحقن لتجنب مشاكل الضغط العالي التي تعمل على اضطراب سريان المذيب أثناء الحقن. أنظر شكل (٨-١٧).



شكل (٨-١٦): نظام الحقن أثناء سريان المذيب
Injection during solvent flowing system



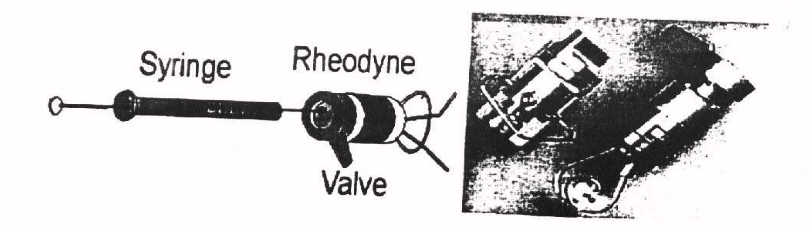
شكل (٨-١٧): نظام الحقن عند توقف سريان المذيب

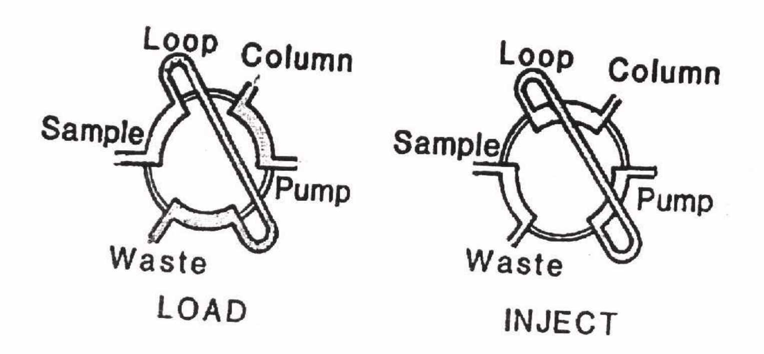
Stop flow Injection system

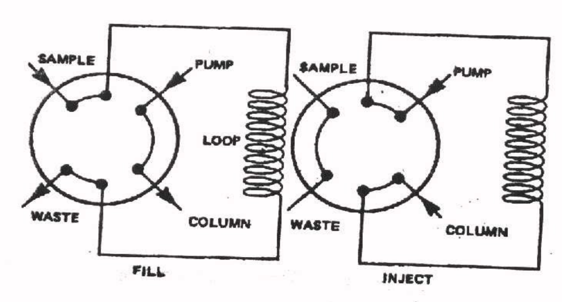
نظام الحقن من خلال صمام (Loop valve) Valve injectors

وهنا في نظام الحقن من خلال صمام يتميز بالفصل بين ادخال العينة ونظام الازاحة تحت ضغط عالي حيث يوجد وضعين two positions أحدهما لعمل تحميل للعينة داخل غرفة الحقن load position والآخر لحقن العينة inject position

و عند تحميل العينة loading يتم ادخال العينة في غرفة ذات حجم ثابت fixed volume loop على الضغط الجوي العادي بينما يمر الوجه التحرك من المضخة الى العمود على ضغط عالي وعند ادارة الصمام rotate the valve الى وضع الحقن inject position فان الغرفة التي تم تحميلها بالمذيب تصبح جزء من نظام سريان المذيب وبذلك تدخل العينة الى العمود. كما هو موضح فى شكل (٨-١٨)







شكل (٨-١٨): نظام الحقن من خلال صمام

Valve Injection system

ويوجد نوعين من الصمامات هما:

الصمام السداسي Six-port valve design

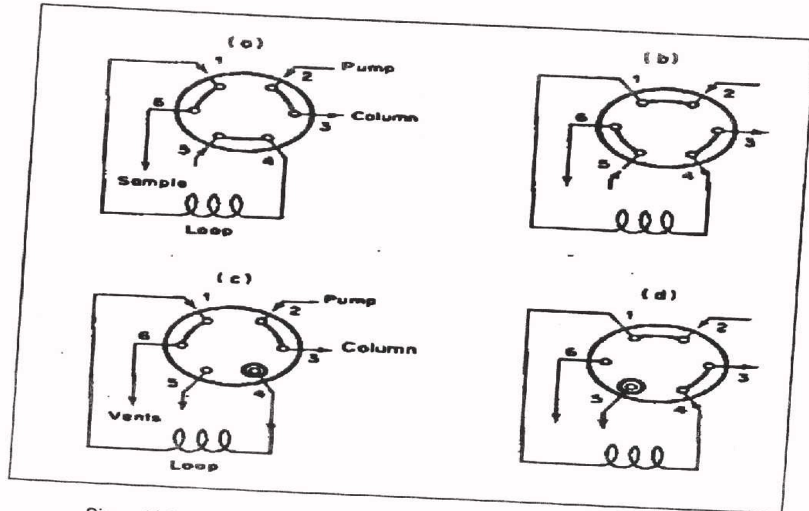
هذا الصمام له حجم ثابت ميكانيكيا حيث له أبعاد ثابتة fixed loop تمتلىء بحوالي μl 20 or 10 مما يعطي نفس النتائج عند تكرار الحجم أي يتميز بأنه high reproducibility وهنا يجب الحقن بحجم عينة أكبر مما تستوعبه غرفة الصمام (5-10 loop volumes) للتأكد من أن الغرفة امتلأت تماما بالعينة ومازاد عن حجم الغرفة تم طردة خارج الغرفة.

الصمام السباعي Seven-port valve design

هذا الصمام السباعي هو البديل الأكثر شيوعا عن الصمام السداسي حيث يمكن حقن أحجام مختلفة من العينات variable volumes بحيث لاتزيد عن نصف حجم الغرفة أي أننا نحقن μl 10 من العينة عندما يكون حجم الغرفة μl 20 loop ويجب أن يظل سن السرنجة داخل غرفة الحقن حتى تمام دوران ذراع الصمام وعمل inject للعينة وذلك للتأكد من أنه لم يحدث أي تسريب للحقنة الى خارج غرفة الحقن. وبصفة عامة عندما يكون نصف قطر عمود التحليل حوالي 4.6 - 5 mm i. d. يجب أن لا تزيد حجم العينة التي تحقن عن μl 20 حتى لا نحصل على منحنى عريض band broadening ويكون الفصل رديء. ويوضح شكل (٨-١٩) نظام الحقن خلال صمام سداسى أو سباعى six and seven – port injection valve

نظام الحقن من خلال سدادة Septum-type syringe injector

يتم حقن العينة على قمة العمود من خلال سدادة مرنة من غشاء مطاط self-sealing septum وهذا النوع من نظم الحقن يمكن اتباعه بدون مشاكل حتى ضغط 100 atm من خلال سدادة واحدة single-septum type كما يمكن استخدامه أيضا بدون مشاكل حتى ضغط 200 atm من خلال سدادة مزدوجة double-septum type ولكن حقن أحجام كبيرة من العينات على ضغط عالي تكون محدودة لأنها تحتاج الى قوة دفع للعينة تقاوم الضغط العالي في الجهاز.



Six-port injection valve: (a) LOAD position (b) INJECT position.
Seven-port injection valve: (c) LOAD position (d) INJECT position.

شكل (٨-١٩): نظام الحقن من خلال صمام سداسى أو سباعى
Six and seven – port Injection valve

نظام الحقن من خلال سرنجة ليس بها سدادة Septumless syringe injector

وهذا النظام تم تطويره للتغلب على العيوب والمشكلات الموجودة في نظام الحقن من خلال السدادة وفي نفس الوقت تحتفظ بمميزات نظام الحقن من خلال سرنجة.

رابعا : الأعمدة Columns

توجد انواع عديدة من أعمدة التحليل الكروماتوجرافي بالسائل بدءا من preparative columns بأحجام تصل الى 5 x 50 cm أو أكبر وحتى الوصول الى wall-coated capillary columns

أعمدة التحليل Analytical columns

معظم عمليات التحليل بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل تتم باستخدام عمود تحليل قطره الداخلي 4.6 - 5 mm وقطره الخارجي ¼ inch، ومعدل سريان المذيب فيه 1-2 ml/min، وتبلغ أطوال هذا العمود 10, 15, or 25 cm long.

كما هو موضح بشكل (٨-٢٠) وتعبأ الأعمدة القصيرة منها بمادة دعامية يبلغ قطرها في حدود ٣-٥ ميكرون أما الأعمدة القصيرة جدا في حدود 3 cm long تعبأ بحبيبات قطرها ٣ ميكرون. ومعظم هذه الأعمدة تصنع من الصلب stainless steel وبعض المواد المعبأة packing materials موجودة في صورة flexible walled plastic cartridges

أعمدة التحليل الدقيقة Microbore columns

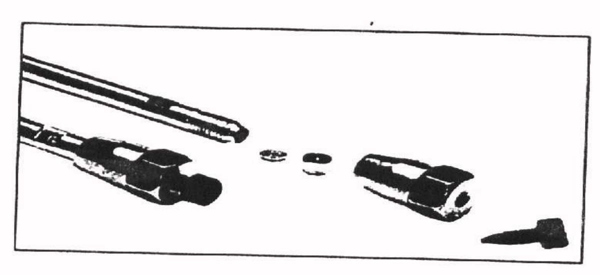
في أعمدة التحليل الدقيقة يكون قطرها الداخلي 1-2 mm، وتبلغ أطوال هذا العمود 25-50 cm long، وذلك يزيد من كفاءة العمود في الفصل وهذه الأعمدة ارفع من النوع السابق وبالتالي فان معدل السريان يكون قليل حيث يكون في حدود 10-100 µl / min

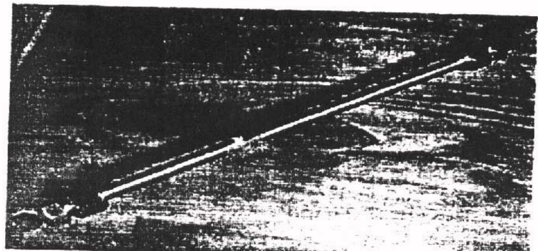
أعمدة التحليل الشعرية Cappillary columns

وهي أعمدة دقيقة جدا narrow open-tubular ولاتوجد بها مادة دعامية ولكن الوجه السائل الثابت bonded-phase يبطن السطح الداخلي للعمود wall-coated stationary phases (شكل ٨-٢١).

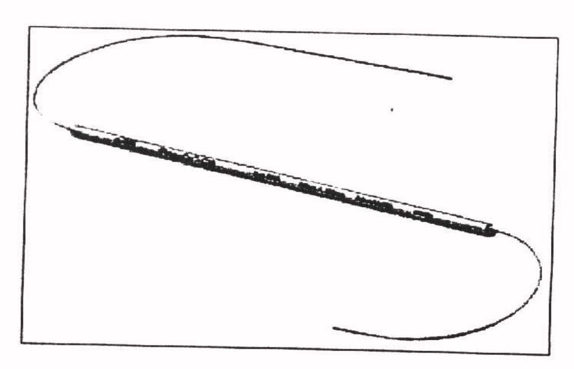
أعمدة التحليل الحارسة Guard columns

توجد أعمدة قصيرة تستخدم لمرة واحدة disposable وتوضع قبل عمود التحليل الأساسي لحمايته وتسمى أعمدة حارسة guard columns وهي تحتوي على نفس الوجه الثابت stationary phase وأحيانا توضع تلك الأعمدة بين صمام الحقن وعمود التحليل لمسك trap أي مواد غير ذائبة أو مسك المركبات الشديدة الارتباط بمادة العمود highly retained compounds حتى لا تتراكم على عمود التحليل الأساسي. وهذه الأعمدة يمكن تعبئتها يدويا بمادة حبيباتها أكبر coarser من الحبيبات المستخدمة في تعبئة العمود الأساسي. (شكل ٨-٢٢)



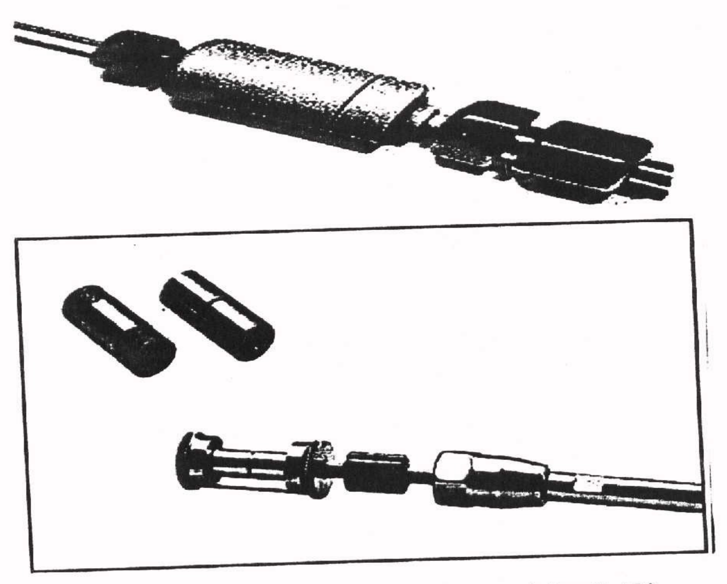


شكل (٨-٢٠): أعمدة التحليل المستخدمة فى جهاز HPLC



شكل (٨-٢١): أعمدة التحليل الشعرية المستخدمة فى جهاز HPLC

Capillary columns



شكل (٨-٢٢): أعمدة التحليل الحارسة المستخدمة فى جهاز HPLC
Guard column or cartridges

أعمدة توضع قبل عمود التحليل الأساسي Pre-columns

وهي أعمدة قصيرة أيضا وتعبأ بحبيبات كبيرة الحجم من السليكا وغالبا توضع هذه الأعمدة بين المضخة وغرفة الحقن، وتستخدم لمرة واحدة أيضا disposable ويطلق عليها pre-column أو تسمى الأعمدة الملتهمة scavenger columns

أعمدة التحليل المعبأة Packing columns

يمكن تعبأة الأعمدة المستخدمة في جهاز HPLC بدلا من شرائها وهنا يمكن عمل عجينة خفيفة thin slurry من المادة المطلوب تعبئتها (2g in 25ml) وتعلق في مذيب مناسب مثل الميثانول وباستخدام مضخات قوية تسحب هذه العجينة الى داخل العمود بسرعة على ضغط عالي ومعدل سريان عالي.

خامسا: الفـرن Column ovens

معظم عمليات الفصل باستخدام جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل تتم على درجة حرارة الغرفة ambient temperature ولكن بعض عمليات التحليل وخاصة عند تحليل المواد ذات الوزن الجزيئي العالي مثل steroids أو cyclosporins يتم تحسين فصلها برفع درجة حرارة العمود وذلك لزيادة كفاءة الفصل ، ويتم التحكم في درجة حرارة العمود بأكثر من طريقة مثل:

- استخدام ماء موضوع داخل وعاد يحيط بالعمود يسخن كهربيا water jacket
- استخدام فرن كهربي electrical oven block
- استخدام فرن يعطي هواء ساخن air blown oven

وعلى العكس من GLC لا يمكن برمجة درجة حرارة العمود أثناء عملية الفصل في جهاز HPLC. ويوضح شكل (٨-٢٣) الأفران التى يمكن استخدامها فى جهاز HPLC

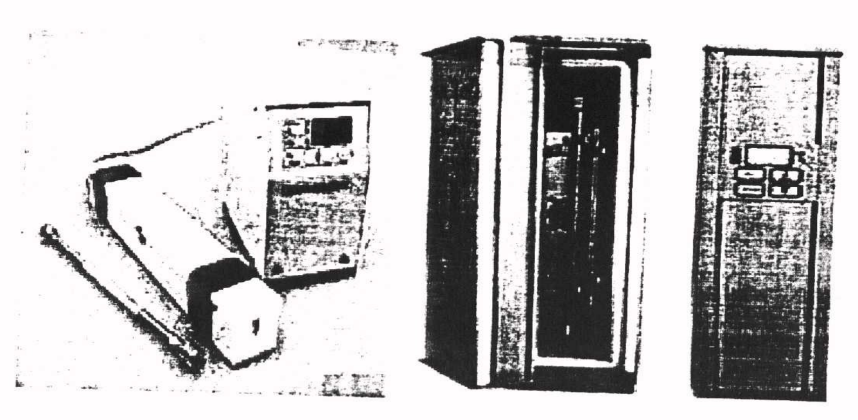
نظام الازاحة بالمذيبات Elution systems

الفصل بنظام مذيب ثابت Isocratic system

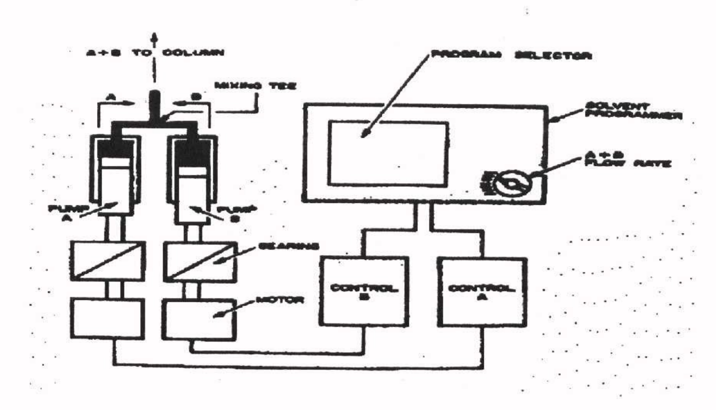
وهنا يتم استخدام وجه متحرك mobile phase من مذيب واحد فقط single solvent أو نسبة ثابتة fixed proportion لمخلوط من المذيبات لاتتغير طوال عملية التحليل وهذا النظام يطلق عليه أيضا constant mobile-phase strength وهو مفيد لتحليل مركبات فردية individual compounds أو مخاليط بسيطة من المركبات.

الفصل بنظام مذيبات بنسب متغيرة Gradient system

وهنا يتم الفصل باستخدام مذيبين أو مجموعة من المذيبات تتغير نسبتها الى بعضها بمرور زمن التحليل ولذلك يسمى gradient elution وهذا النظام مفيد جدا في حالة فصل مخلوط من المركبات التي تختلف عن بعضها في خصائصها الطبيعية حيث يتم تغيير نظام المذيب من مخلوط ضعيف القطبية الى مخلوط عالي القطبية أو العكس ليعطي فرصة للمركبات المختلفة أن تخرج بالكامل وتفصل في زمن قصير. وهذا النظام يطلق عليه أيضا variable mobile-phase strength. ويوضح شكل (٨-٢٤) طريقة الفصل بنظام النسب المتغيرة من المذيبات.



شكل (٨-٢٣): الفرن Oven فى جهاز HPLC



شكل (٨-٢٤): طريقة الفصل بنظام النسب المتغيرة من المذيبات

Mixed – Stream Gradient System

وهنا يجب مراعاة أنه في حالة استخدام نظام الوجه الكروماتوجرافى العادى normal phase chromatography فأن مخلوط المذيبات المستخدم يبدأ بقطبية أقل low polarity ثم تزداد القطبية high polarity مع مرور الوقت أما في حالة استخدام نظام الوجه الكروماتوجرافى المعكوس reversed phase chromatography فان الوجه العضويstronger organic phase يزداد بالمقارنة بالوجه المائي weaker aqueous phase

سادسا: الكشاف Detectors

وهنا العامل المحدد لاختيار نوع الكشاف المستخدم هو مدى حاجتنا الى حساسية عالية sensitivity واختيارية عالية selectivity وثبات المركبات عند ظروف التحليل المستخدمة stability وامكانية تكرار النتائج reproducibility واخيرا وجود استجابة خطية linear range كلما يزداد التركيز.

وبينما كان من السهل عند استخدام جهاز GLC أن نستخدم كشاف يفرق بين المادة العضوية والغاز الحامل الخامل الغير عضوي فاننا هنا في حالة استخدام جهاز HPLC يصعب ذلك لأن كل من الوجه المتحرك والمادة analyte التي نحللها عبارة عن مركبات عضوية وعلى ذلك يجب هنا استخدام كشافات تعتمد على أساس الاستجابة الاختيارية selective response للمادة المراد تحليلها دون الاستجابة لمادة الوجه المتحرك.

كشاف الأشعة المرئية وفوق البنفسجية Ultraviolet-visible detectors

العديد من المركبات العضوية المحتوية على مجاميع كروموفورية مثل المركبات العطرية والمحتوية على روابط سيجما متبادلة مع روابط باي والمركبات العضوية الغير مشبعة مثل الكيتونات والاسترات يمكن الكشف عنها بقياس امتصاصها للأشعة فوق البنفسجية، والمركبات الغير عضوية الأيونية والمعقدات يمكن الكشف عنها بقياس امتصاصها للأشعة المرئية.

تستخدم لمبة الزئبق mercury lamp لتعطي خط طيف قوي عند طول موجة 254 nm وهي طول الموجة التي يمتص عندها معظم المركبات العطرية والمحتوية على روابط سيجما متبادلة مع روابط باي conjugated and aromatic compounds وكلما زاد تركيز هذه المركبات يزداد الامتصاص.

ويمكن تقسيم كشاف الأشعة المرئية وفوق البنفسجية الى ثلاثة أنواع:

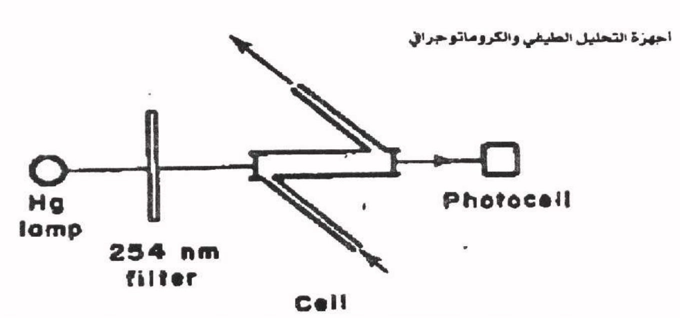
ا- كشاف ذو طول موجي ثابت Fixed wavelength UV-VIS detector

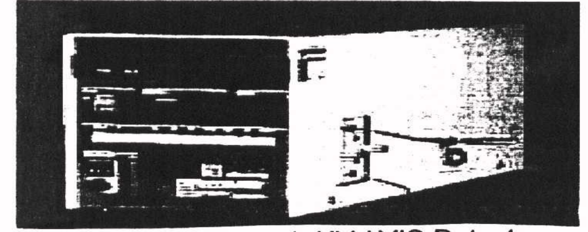
يعتمد هذا الكشاف على استخدام لمبة الزئبق mercury lamp لتعطي خط طيف قوي عند طول موجة 254 nm بينما يمكن الحصول على طول موجة أقصر 214 nm باستخدام لمبة الزنك zinc lamp مع مرشح. وتتميز هذه الكشافات بأن المسار الضوئي فيها بسيط جدا ولا تحتاج الى موحد موجات. وبعض الأجهزة القديمة كانت تستخدم خط طيف له طول موجة 245 nm لاثارة الفوسفور لتوليد طول موجي آخر عند 280 nm والذي يعتبر هام جدا بالنسبة لقياس العينات البيولوجية.

ومعظم الأجهزة ذات الطول الموجي الثابت تستخدم حزمة مرجعية reference beam وخلية مذيب ثانية second solvent cell وعمليا تترك هذه الخلية المرجعية فارغة وتعتبر air blank ويوضح شكل (٨-٢٥) رسم تخطيطى للكشاف ذو الطول الموجى الثابت. كما يوضح أيضا شكل (٨-٢٦) طراز آخر للكشاف ذو الطول الموجى الثابت فى نطاق الأشعة فوق البنفسجية.

ب- كشاف ذو طول موجي متغير Variable wavelength UV-VIS detector

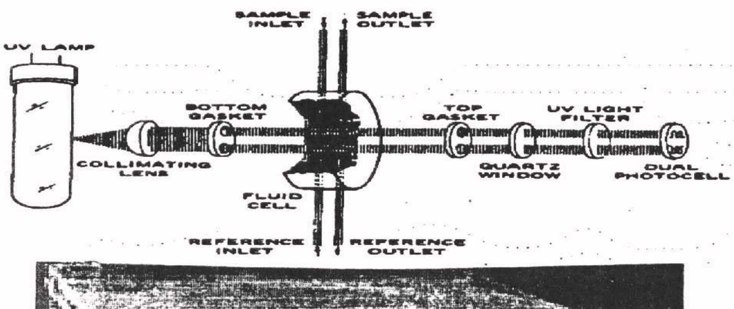
وهذا الكشاف أكثر شيوعا ويستخدم فيه لمبة ديوتيريوم deuterium lamp لاعطاء أطوال موجات في نطاق أشعة UV أي من 380 nm – 180 وكذلك لمبة تنجستن tungsten lamp لاعطاء أطوال موجات في نطاق أشعة VL أي من 700 nm – 380 ولذلك يستخدم موحد للموجات grating monochromator لاختيار طول الموجة الذي يجرى عليه التحليل. ويوجد أكثر من طراز لهذا النوع من الكشافات ذات الطول الموجى المتغير كما فى شكل (٨-٢٧).

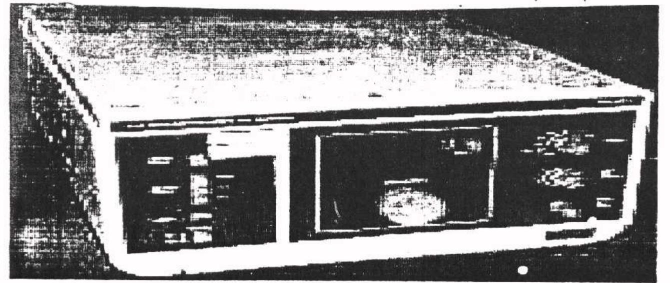




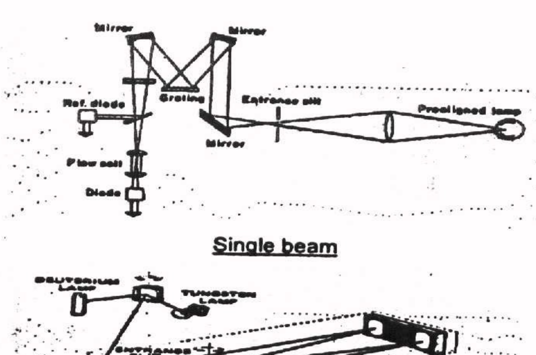
Fixed wavelength UV / VIS Detector
λ 254 nm from a mercury lamp and filter

شكل (٨-٢٥) كشاف الأشعة المرئية وفوق البنفسجية ذو طول الموجة الثابت

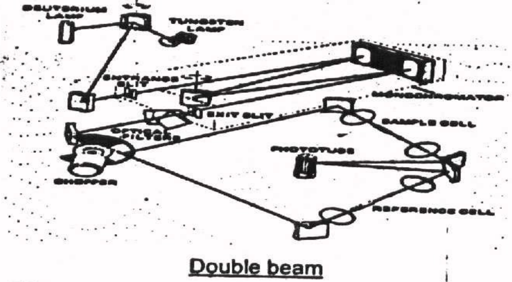




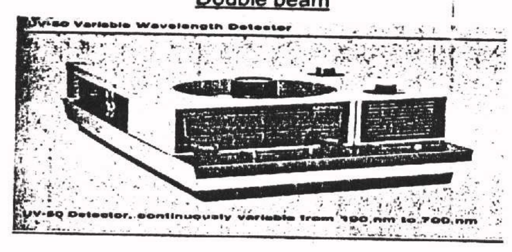
شكل (٨-٢٦): كشاف الأشعة افوق البنفسجية ذو طول الموجة الثابت
Fixed wavelength UV Detector

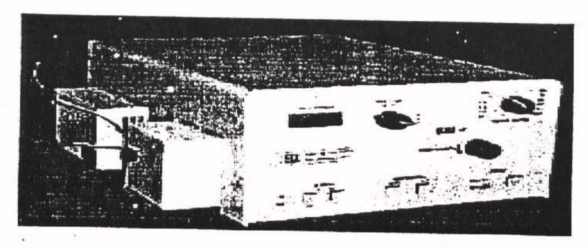


Single beam



Double beam





Variable wavelength UV / VIS Detector

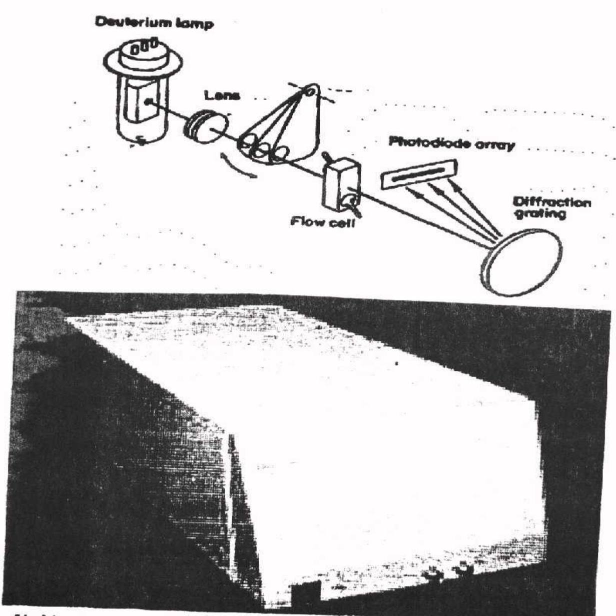
شكل (٨-٢٧) كشاف الأشعة فوق المرئية وفوق البنفسجية ذو طول الموجة المتغير

جـ- كشاف نظام الصمام الثنائي Diode array UV-VIS detector

يعتمد استخدام كشاف نظام الصمام الثنائي photodiode array على استخدام بصريات معكوسة reverse optics حيث يمر كل الضوء الصادر من لمبة الديوتيريوم خلال العينة الى موحد الموجات والذي يقوم بتفريد حزمة الضوء الى طيف . وهذا الطيف يسقط على نظام يتكون من 230-350 صمام ثنائي موضوعة على silicon chip ويتم القياس تلقائيا بواسطة كومبيوتر صغير لتعطي لنا الامتصاص الكامل للطيف لأطوال موجات 200 - 700 nm كل زمن قدره 0.1 min (شكل (٨-٢٨).

كشاف الوميض Fluorescence (Fluorichrom) detectors

لكي يتم الكشف عن اي مركب بواسطة كشاف Fluorescence يجب أن يحتوي هذا المركب على مجموعة fluorophore group والتي لها خصائص الاستضواء، وتتم عملية الاثارة excitation باستخدام لمبة الزينون xenon lamp



شكل (٨-٢٨) كشاف الأشعة فوق البنفسجية ذو نظام الصمام الثنائى

Optical path in a photodiode array spectrometer.

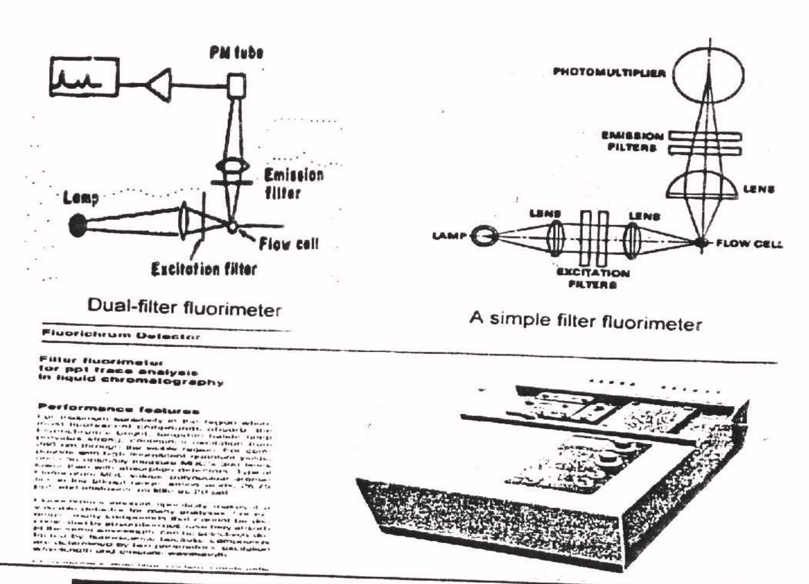
ويوضع الكشاف على طولين موجيين، الأول طول موجة خاص باثارة مجموعة الفلوروفور excitation wavelength والثاني طول الموجة الخاص بانبعاث الضوء من هذه المجموعة أيضا emission wavelength ، ويتم اختيار طول الموجتين السابقتين باستخدام مرشحات تمرر حزمة ضيقة جدا من الضوء narrow bandpass filters وأيضا يستخدم duel single monochromator fluorometers

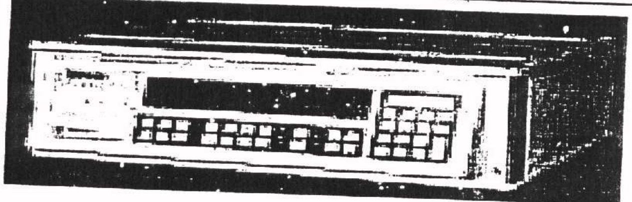
ويوجد عدد قليل نسبيا من المركبات الذي له خاصية الاستضواء مثل مركبات الأفلاتوكسين Aflatoxins ولكن غالبا بعض المواد مثل الأمينات الأليفاتية أو الأحماض يمكن تحويلها الى مشتقات فلوريسينية fluorescent derivatives باضافة مجموعة fluorophore group إليها. ويوضح شكل (٨-٢٩) كشاف الوميض احادى وثنائى المرشح وأشكال أخرى مختلفة لكشاف الوميض.

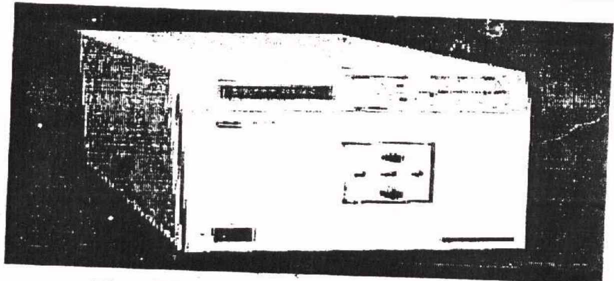
وقد لاقى استخدام هذا الكشاف نجاحا في كشف الهيدروكربونات الأروماتية العديدة الأنوية polynuclear aromatic hydrocarbons في المياه waste water وكذلك تقدير مادة الريبوفلافين riboflavin في حبوب الفيتامينات وكذلك رصد وتتبع السموم النباتية aflatoxins في منتجات الحبوب المخزنة.

٣- كشاف معامل الانكسار Refractive index detectors

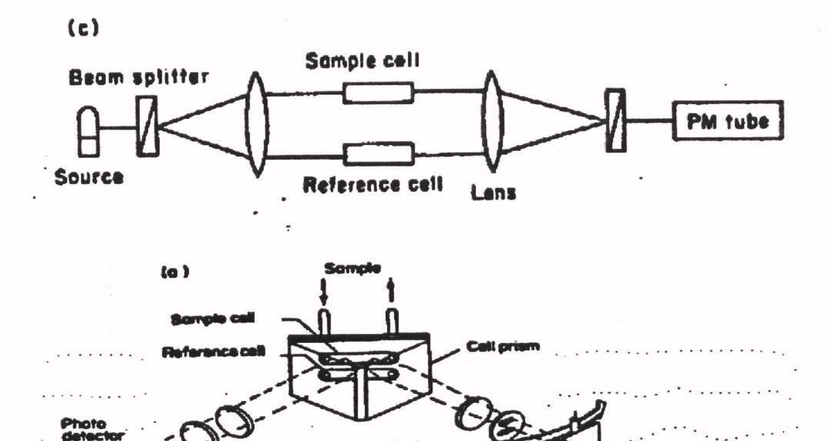
هذا الكشاف يعتبر كشاف عام ويعتمد على أنه عند مرور المذيب المستخدم في الوجه المتحرك فان له معامل انكسار معين وثابت لأن معامل الانكسار خاصية طبيعية لكل مركب ولكن عند خروج المركب المراد تحليله مع هذا المذيب من العمود فان معامل الانكسار للمذيب مع المركب سوف يتغير ويمكن بواسطة كشاف معامل الانكسار قياس هذا التغير، ويتم قياس الانحراف عن معامل الانكسار deflection refractometer باستخدام خلية لها جزئين يفصل بينهما نافذة two-compartment cell على أحد جانبي الخلية الوجه المتحرك وعلى الجانب الآخر من النافذة يدخل المحلول المزاج (المركب + الوجه المتحرك)، ويتم ضبط الخلية في البداية على أساس توزيع الضوء بالتساوي على جانبي المنشور. وأي تغير في معامل انكسار المذيب سوف يسبب انحناء أو انكسار للضوء وبالتالي سوف تتغير نسبة الضوء التي تسقط على كل جانب من جانبي المنشور وهكذا تتغير الاستجابة من الخليتين الضوئيتين كما هو موضح في الشكل (٨-٣٠).

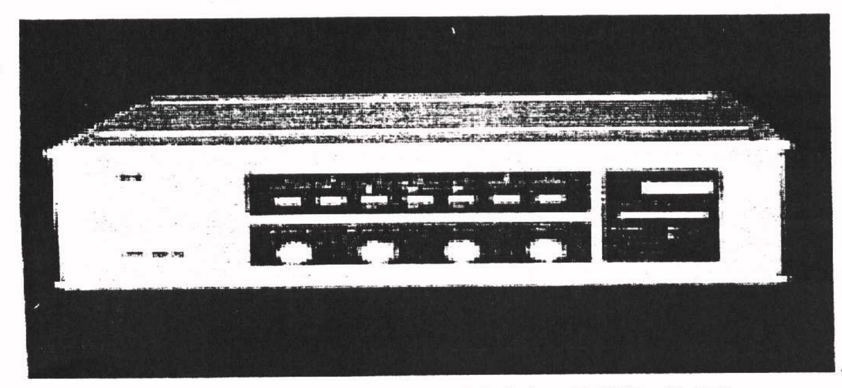






شكل (٨-٢٩) كشاف الوميض Fluorichrom Detector





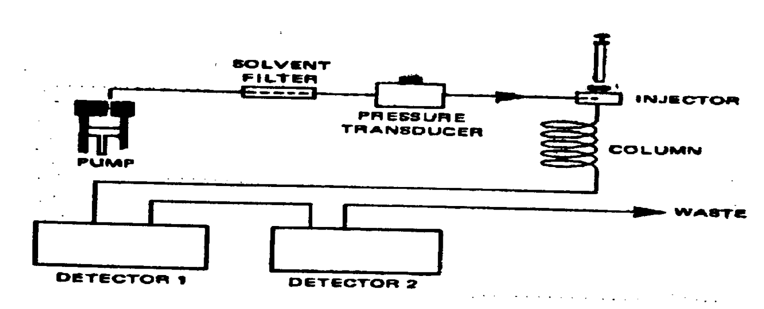
شكل (٨-٢٠) كشاف معامل الانكسار Refractive index Detector

وعند استخدام مركبات مختلفة فان استجابة الكشاف لكل مركب تعتمد على الفرق في قيمة معامل الانكسار بين كل مركب وبين الوجه المتحرك ولذلك هنا يستخدم نظام isocratic elution حتى نحصل على معامل انكسار ثابت قبل ادخال المركبات المطلوب تحليلها ولا يمكن استخدام نظام gradient elution لأن ذلك يعني أننا لن نحصل على قيمة معامل انكسار ثابتة للوجه المتحرك لأنه يتغير بين وقت وآخر.

وعلى الرغم من أن هذا الكشاف يصلح لجميع المركبات الا أن أهم عيوبه حساسيته الضعيفة كما انه لايمكن استخدامه مع gradient elution

جهاز كروماتوجرافيا السائل متعدد الكشافات multi detectors

وهنا يمكن استخدام أكثر من كشاف على نفس الجهاز بحيث يمكن التأكد من التحليل بأكثر من كشاف ويمكن توصيل كل كشاف بمسجل خاص به. كما هو موضح فى الشكل (٨-٣١)



شكل (٨-٣١): جهاز كروماتوجرافيا السائل متعدد الكشافات
Multi-Detector HPLC

نظام اختيار طريقة الفصل

Selection of a separation method in HPLC

ان اختيار أنسب الطرق لتحليل مركب معين أو مخلوط من المركبات بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل عملية معقدة وليست بسيطة حيث أنها تعتمد على عدة عوامل مثل قطبية المركبات وهل هي موجودة في صورة متأينة أو غير متأينة واذا كانت متأينة هل كاتيونية أم انيونية وهل هي موجودة في صورة أملاح وكذلك الوزن الجزيئي لهذه المركبات عامل هام جدا .

ويتميز جهاز HPLC بمرونة كبيرة جدا حيث يمكن استخدام طرق فصل مختلفة على نفس الجهاز بمجرد تغيير العمود (الوجه الثابت) فقط أو تغيير كل من العمود والوجه المتحرك (نظام المذيبات المستخدم) ، ويمكن اعتبار أهم عاملين لتحديد الطريقة المثلى للتحليل هما الحجم الجزيئي molecular size للمركبات المراد تحليلها وكذلك قطبية polarity هذه المركبات.

وعلى الرغم من أن هناك اتجاه لاعتبار نظام الوجه المعكوس reversed-phase chromatography الطريقة الأوتوماتيكية التي تصلح لمعظم المركبات حيث أنه يمكن استخدام نظام مذيبات عالي القطبية أو استخدام ماء مخلوطا مع هذه المذيبات كما يمكن أن يحتوي الوجه المتحرك على محاليل منظمة أو مواد اضافية أخرى إلا أنه في بعض الحالات ومع مركبات معينة يجب اختيار طرق أخرى.

المركبات التى لها وزن جزيئي كبير مثل البروتينات والبوليمرات البيولوجية يمكن فصلها على أساس وزنها الجزيئي باستخدام كروماتوجرافيا التمايز size exclusion chromatography وهذه الطريقة مناسبة جدا للمركبات التي يكون وزنها الجزيئي أكبر من ٢٠٠٠ دالتون.

المركبات الأيونية مثل الكاتيونات والأنيونات مثل المعادن القلوية metals alkali والهاليدات halides والأملاح الغير عضوية الأخرى يمكن فصلها فقط بنظام كروماتوجرافيا المبادلات الأيونية ion-exchange chromatography

العينات التي تحتوي على مخلوط من المركبات لها مجاميع فعالة مختلفة عن بعضها يمكن فصلها وتحليلها باستخدام كروماتوجرافيا الوجه العادي normal-phase chromatography وهنا يعتمد الفصل على الاختلاف في التداخلات القطبية للمركبات المراد تحليلها polar interactions مع الوجه الثابت القطبي.

نظام الوجه العادي Normal-phase separation methods

على الرغم من أن نظام الوجه العادي أقل انتشارا من نظام الوجه المعكوس الا أنه مازال يستخدم ، وهذا النظام يستخدم عادة على نطاق كبير في حالة عمليات الفصل التحضيرية preparative separations وذلك لأن الوجه الثابت stationary phase في هذا النظام أرخص وأقل تكلفة من الوجه الثابت في نظام الوجه المعكوس.

١. الوجه الثابت في نظام الوجه العادي Stationary phase materials

يستخدم السليكا جيل كوجه ثابت في هذا النظام حيث يتم تجفيف حبيبات السليكا الكروية الشكل على درجة 150°C لازالة أي آثار من الرطوبة ثم ترفع درجة الحرارة لتنشيط سطحها ثم معاملتها بمركب silanol لتحويل المجاميع الفعالة النشطة على سطح السليكا جيل مثل مجاميع OH عن طريق تكوين روابط هيدروجينية الى مجاميع siloxanes (si-o-si)

وسطح السليكا جيل نشط جدا حيث أن أي آثار للرطوبة أو الماء في الوجه المتحرك تتفاعل بقوة مع مجاميع السيلانول الحرة free silanol (SiOH) groups مما يغير من النشاط السطحي لمادة السليكا ويؤثر على خصائص عملية احتجاز المركبات retention properties ولذلك يجب التأكد تماما من جفاف وخلو المذيبات المستخدمة في هذا النظام من أي آثار للماء.

ويمكن استخدام السليكا الحامضية acidic silica surface لفصل المركبات الحامضية كما يمكن استخدام السليكا المتعادلة Neutral alumina (حيث أن لها خصائص قاعدية) لفصل المركبات القاعدية.

٢. الوجه المتحرك في نظام الوجه العادي Mobile phases

تعتمد قوة الازاحة للوجه المتحرك في نظام الوجه العادي على قطبيته بدرجة كبيرة جدا حيث تجرى عمليات الفصل باستخدام خلائط من المذيبات العضوية باستثناء بعض المذيبات مثل الهيدروكربونات العطرية التي لها لزوجة عالية ويصعب ضخها خلال العمود أو التي يمكن أن يستجيب لها الكشاف المستخدم ويحدث بالتالي تداخل في عملية تقدير العينات.

أي نسبة بسيطة من المذيبات التى لها القدرة على تكوين روابط هيدروجينية polar hydrogen-bonding solvent مثل كحول الميثانول أو الايثانول يمكن أن تؤثر بقوة على القطبية بسبب تداخلها مع مجاميع السيلانول الحرة على سطح السليكا في العمود المستخدم، أما الماء فانه يمكن أن يزيل النشاط السطحي بالكامل للسيليكا جيل وبالتالي يعمل تغيير شديد جدا في عمليات الفصل الكروماتوجرافي.

نظام الوجه المعكوس Reversed-phase separation methods

نظـام الوجــه المعكـوس يعـني اسـتخدام وجـه متحـرك عـالي القطبيـة polar mobile phase على وجه ثابت غير قطبي non-polar stationary phase لفصل المركبات على أساس أنها كارهة للماء أي غير قطبية hydrophobic

١. الوجه الثابت في نظام الوجه المعكوس Stationary phase materials

يستخدم عدد من التفاعلات لربط مجاميع ألكيل alkyl أو فينايل aryl على سطح حبيبات السليكا جيل وتكوين رابطة ايثرية بين الكربون والسليكون C-O-Si، ومواد الأعمدة الحديثة في هذا النظام تعتمد على تفاعل مجاميع السيلانول silanol group على سطح السليكا مع alkylsilyl halide لتكوين رابطة عالية الثبات من Si-O-Si ويمكن استخدام مواد أخرى من الوجه المرتبط على السليكا bonded-phase materials لتعطي درجات مختلفة من القطبية ومن هذه المواد stationary-phase materials مستبدل عليها مجاميع فعالة مثل amino, cyano, nitro, or diol كما يمكن استخدام وجه ثابت stationary phase من مركبات البوليمرات الشبكية المصنعة crosslinked porous synthetic polymers

٢. الوجه المتحرك في نظام الوجه المعكوس Mobile phases

يستخدم عادة كحول الميثانول methanol او الأسيتونيتريل acetonitrile أو THF كوجه متحرك في نظام الوجه المعكوس ويتميز الميثانول بأنه ارخص في الثمن ولذلك فهو واسع الاستخدام ، وأيضا الأسيتونيتريل يتميز بأنه عالي الكفاءة في الفصل بينما مذيب THF هو أقلهم استخداما؛ بسبب أنه عالي التطاير ويمكن أن يسبب مشاكل في التحليل.

ويمكن ترتيب هذه المذيبات من ناحية قوة الازاحة elution strength على النحو التالي ميثانول ثم اسيتونيتريل ثم THF ويمكن استخدام مخاليط من هذه المذيبات مع الماء ، وقد وجد أن المخاليط التالية

methanol- water 70 : 30, acetonitrile-water 50 : 50, THF-water 35 : 65

لها نفس قوة الازاحة have similar elution strengths

كما يمكن استخدام مخلوط من الميثانول + الأسيتونيتريل + الماء ويمكن استخدام خلطة ثابتة منه isocratic elution أو استخدام نسب متغيرة gradient elution من هذه المذيبات.



الفصل التاسع

ازدواج أجهزة التحليل
الكروماتوجرافي مع مطياف الكتلة

مقدمة:

اصبحت الحاجة ملحة الى إجراء تحليل بواسطة مطياف الكتلة لمجموعة من المركبات الموجودة معا في عينة واحدة في مجال تحليل المتبقيات residue analysis للملوثات البيئية أو المبيدات وغيرها ولما كان من الصعوبة بمكان اجراء ذلك التحليل لخاليط المركبات فقد تم التفكير في استخدام أجهزة التحليل الكروماتوجرافي لفصل تلك المخاليط وادخال كل مركب على حدة الى جهاز تحليل مطياف الكتلة اي أن أجهزة التحليل الكروماتوجرافي تستخدم فقط لعمل فصل separation لمخلوط المركبات. وكما نعلم ان التحليل الكروماتوجرافي بالغاز لا يمكنه فصل كل المركبات ولكنه يعمل مع مركبات لها شروط معينة كما تم ذكرها في الفصل السابق ولذلك يستخدم أيضا التحليل الكروماتوجرافي بالسائل لفصل المركبات التي يصعب او لا يتوافر فيها شروط قابلية تحليلها بواسطة كروماتوجرافيا الغاز ، ومن هنا تم عمل ازدواج بين GLC مع MS وسمي الجهاز الناتج GC-MS كما تم عمل ازدواج بين HPLC مع MS وسمي الجهاز الناتج HPLC-MS

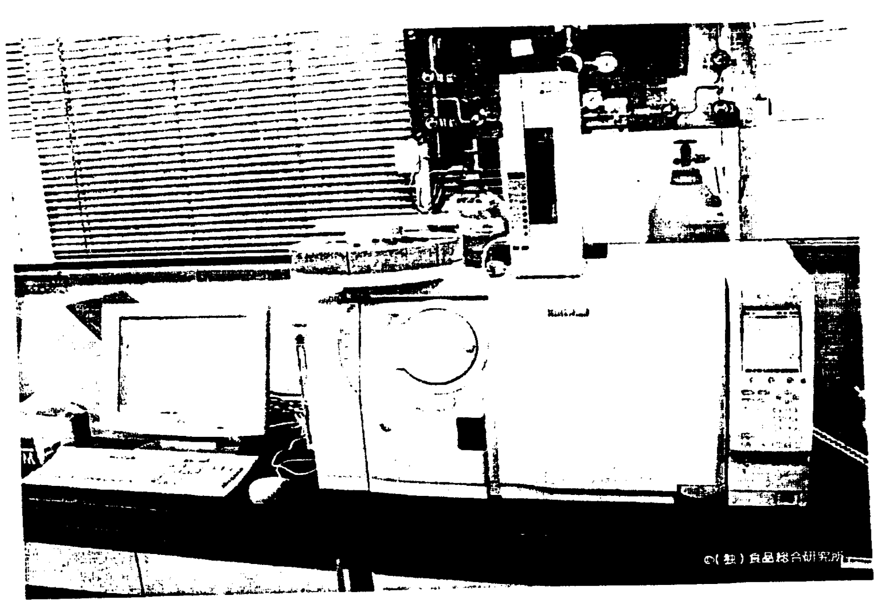
كما يوجد أيضا GC-MS-MS يستخدم لعمل فصل المركبات ثم تقدير طيف الكتلة لكل مركب على حدة ثم التركيز على مركب واحد من هذه المركبات أو نواتج تحطمه وتقدير طيف الكتلة له منفردا.

جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي المزدوج مع مطياف الكتلة GC-MS

تم دمج جهاز التحليل الكروماتوجرافي مع مطياف الكتلة في جهاز واحد وذلك عن طريق توصيل نهاية العمود في جهاز التحليل الكروماتوجرافي مع غرفة التأين ion source في جهاز مطياف الكتلة من خلال وصلة مشتركة بينهما وعمل تفريغ للضغط وسمي الجهاز الناتج GC-MS spectrometer كما هو موضح بشكل (٩-١) حيث يسمح للعينة عن طريق فتحة تسرب ضئيلة جداً من عمود الـ GC بالدخول إلى غرفة

التأين في MS ويمكن التخلص من الغاز الخامل الحامل للعينة عن طريق تمرير العينة والغاز الحامل خلال أنبوبة زجاجية رقيقة الجدار (إذا كان الغاز الحامل هيليوم) أو خلال أنبوبة Palladium (إذا كان الغاز الحامل هيدروجين) كما يتضح بعد ذلك.

وتعتمد كفاءة تشغيل هذا الجهاز على معدل سريان الغاز gas flow وعمليات التفريغ vacuum processes حتى الوصول الى الضغط المطلوب 10^{-5} torr (mm Hg) حيث أن جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي يعمل على الضغط الجوي العادي 760 torr (mm Hg) وعلى مدى واسع من معدل سريان الغاز (يكون كبير جدا في الأعمدة المعبأة مثلا 40 ml/min وضئيل جدا في الأعمدة الشعرية 2 ml/min) وكذلك يعمل على مدى واسع من درجات الحرارة والتركيز، ومن ناحية أخرى نجد أيضا أن مطياف الكتلة يعمل على مدى واسع من نظام التفريغ vacuum system ومصادر التأين وتصميمات مختلفة لنظم فصل الأيونات.



شكل (٩-١): جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي المزدوج مع مطياف الكتلة
Gas Chromatograph / Mass Spectrometer

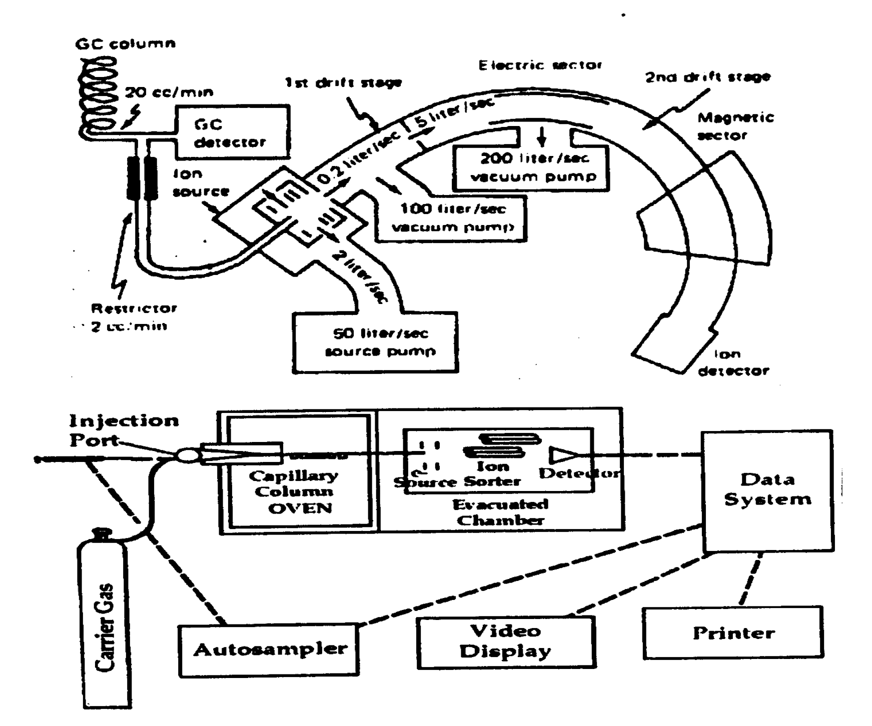
ونجد أن الوصلات connecting lines بين الجهازين عبارة عن صمامات valves وانابيب tubing وفتحات ضيقة جدا orifices وكل واحد من هذه الوصلات يؤثر على تدفق الغاز gaseous flow

ويوضح شكل (٩-٢) بعض الثوابت parameters لحساب تدفق العينة flow وعمليات تفريغ الضغط vacuum conditions من بداية خروج العينة من جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي الى كشاف الأيونات في جهاز مطياف الكتلة.

ويمكن استخدام جهاز GC-MS في تقدير المتبقيات residue analysis سواء للمبيدات أو أي ملوثات أخرى و عمل تأكد كذلك من نتائج التحليل المتحصل عليها بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالغاز confirmation ولكن تظل المشكلة الصعبة قائمة وهي أن التحليل في جهاز GLC يتم على الضغط الجوي العادي 760 torr بينما يتم التحليل بواسطة MS تحت تفريغ يصل الى 10^{-5} torr ولذلك لا يمكن ادخال العينة من ضغط عالي الى ضغط منخفض جدا بهذه الدرجة لأن ذلك يؤدي الى فقد العينة ولكن يجب عمل خفض تدريجي للضغط حتى الوصول الى الضغط المطلوب اجراء التحليل عليه في جهاز مطياف الكتلة.

ومشكلة GC-MS هو ادخال أكبر كمية ممكنة من المركبات العضوية الخارجة من عمود GC الى غرفة تأين مطياف الكتلة بدون أن يحدث خلل في نظام التفريغ داخل كل أجزاء مطياف الكتلة.

ومن المعروف أن مطياف الكتلة يتم فيه تفريغ الضغط داخل غرفة التأين حتى 10^{-4} torr وذلك لتجنب التفاعلات أو التصادمات بين أيونات الجزيئات وبعضها والتي قد تؤدي بدورها الى تكوين شظايا غير معروفة unrecognized fragmentation patterns، كما يجب أن يكون متوسط المسافة بين أيونات الجزيئات وبعضها أكبر من ٢٠٠ سنتيمترا حتى تتحرك بحرية دون حدوث تصادمات وهذه المسافة يطلق عليها المسار الحر mean free path والضغط المقابل لهذه المسافة حوالي 10^{-5} torr لتجنب تبعثر حزم الأيونات ion beam الناتجة عن عملية تكوين الشظايا fragmentation



شكل (٩-٢) رسم تخطيطي يوضح تدفق العينة من جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى إلى الغرفة المفرغة فى جهاز مطياف الكتلة

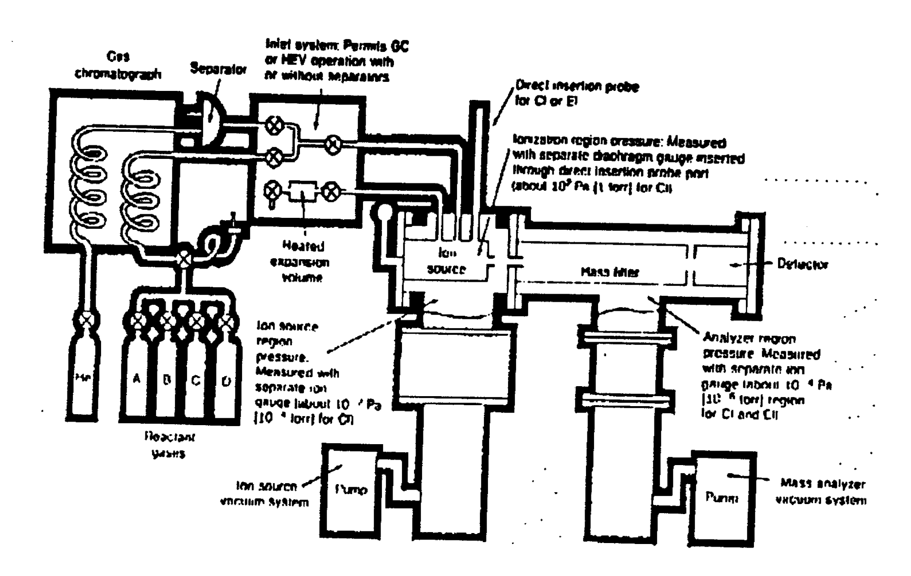
Sample from GC to MS

ومن المعلوم أيضا أن العينات الخارجة من عمود التحليل في جهاز كروماتوجرافيا الغاز تكون محمولة ومخلوطة مع الغاز المتحرك واذا دخلت تلك العينة الى غرفة التأين في مطياف الكتلة وهي مخلوطة مع هذا الغاز فسوف يحدث زيادة شديدة في الضغط داخل جهاز مطياف الكتلة أي يحدث ما يطلق عليه destroying the high vacuum conditions ولذلك يجب التخلص من الغاز الحامل ومنع دخوله مع العينة.

ولذلك يتم استخدام وصلة معينـة بـين الجهـازين تسـمى interface ومجموعـة مـن مضـخات التفريـغ vacuum pumps ووظيفتها عمـل ضـبط adaptation للعينـة بتخفيض الضغط الذي تدخل عليه العينة من الضغط العادي 760 torr الى ضغط يصل الى 10^{-5} torr وكذلك التخلص من الغاز الحامل والسماح لمكونات العينة فقط بالـدخول الى غرفة التأين.

مكونات الجهاز:

ويوضح شكل (٩-٣) الرسم التخطيطي block diagram لجهاز GC-MS



شكل (٩-٣) رسم تخطيطي لمكونات جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي المزدوج مع جهاز مطياف الكتلة Block diagram of GC/MS

ويتكون جهاز GC-MS من الوحدات التالية:

أولاً: جهاز التحليل الكروماتوجرافي Gas chromatograph

وهنا يمكن استخدام جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي بالكامل ويتم عمل تقسيم لمسار العينة الخارجه من العمود الى جزئين splitting الجزء الأول يكمل المشوار الى الكشاف detector للتقدير الكمي quantitative analysis والجزء الثاني يوصل بغرفة التأين في جهاز مطياف الكتلة من خلال وصلة interface لرسم طيف الكتلة للمركب mass spectrum أو يمكن ادخال كل العينة والغاز الحامل الخارج من عمود التحليل column effluent الى غرفة التأين في جهاز مطياف الكتلة.

ثانياً: الوصلة بين الجهازين GC-MS interface

ويوجد عدة طرق لعمل هذه الوصلة وهي :

١. وصلة الاندماج المباشر Direct coupled interface

يتم عند استخدام الأعمدة الشعرية (wall-coated open tubular (WCOT column حيث يكون معدل سريان الغاز الخامل مناسب 1-3 ml/min وهذا المعدل يتلاءم accommodate مع نظام التفريغ المطلوب في جهاز مطياف الكتلة ولذلك هنا يمكن استخدام ما يسمى Direct interface حيث يدخل كل من العينة والغاز الحامل معا الى غرفة التأين في المطياف ثم يتم دفع الغاز الخامل خارج المطياف pumped out بمعدل أسرع من دخول العينة وتتميز هذه الوصلة بأن كل العينة الخارجة من جهاز التحليل الكروماتوجرافي تدخل الى مطياف الكتلة دون فقد أو نقص، ويمكن ايضاح هذه الوصلة فى رسم تخطيطى كما هو فى شكل (٩-٤).

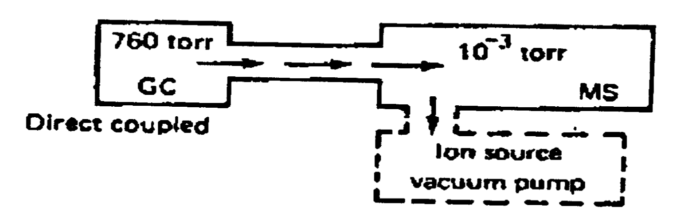
ولكن لا يمكن استخدام هذا النوع من الوصلات في حالة الأعمدة المعبأة packed column لأن معدل سريان الغاز هنا يكون عالي 15-40 ml/min ولا يناسب ذلك المعدل العالي نظام التفريغ المطلوب في جهاز مطياف الكتلة.

٢. انبثاق البخار من فتحة ضيقة Jet orifice interface

يعتمد استخدام هذا النوع من الوصلات على أساس مرور بخار العينة والغاز الخامل من عمود جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي الى غرفة التأين فى مطياف الكتلة من خلال فتحة صغيرة جدا و ضيقة لمرور هذا البخار jet orifice، وعند مرور العينة من

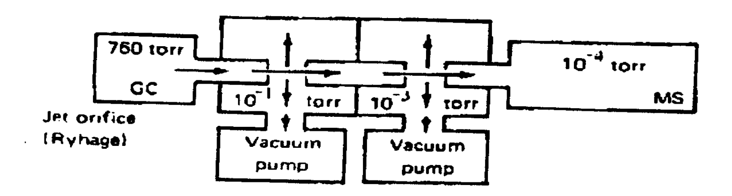
خلال هذه الفتحة تزداد سرعة جزيئات العينة وتمر خلال المنطقة المفرغة ثم تدخل فتحة ضيقة اخرى jet orifice₂ حتى تصل الى غرفة التأين في المطياف وهنا نجد أن الغازات الحاملة الخفيفة الوزن مثل H_2, N_2, He تطرح خارج المنطقة المفرغة ولكن جزيئات العينة الأكبر في الوزن الجزيئي تواصل سيرها حتى تصل الى الفتحة الضيقة الثانية دون أن تنحرف وبذلك لا يتم سحبها بواسطة المضخات الموجودة حول هذه الفتحات (شكل (٩-٥).

وهذه الوصلة (انبثاق البخار من خلال فتحة ضيقة جدا get orifice) تعتبر جيدة الاستخدام في حالة الأعمدة المعبأة packed columns وكذلك في حالة الأعمدة الشعرية capillary column



شكل (٩-٤) وصلة الاندماج المباشر بين GC/MS

Direct coupled interface



شكل (٩-٥) وصلة انبثاق البخار من الفتحة الضيقة بين GC/MS

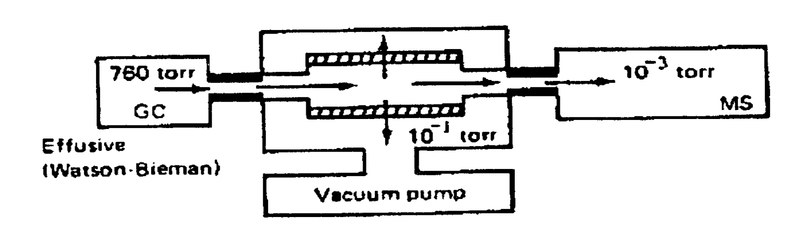
Jet orifice interface

٣. تدفق بخار العينة Effusive interface

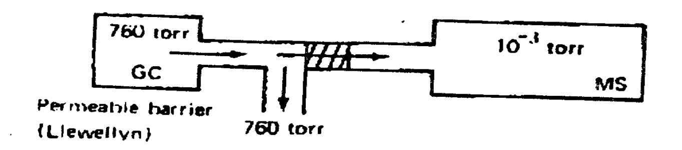
وهنا يتم فصل الغاز الخامل والعينة على أساس الفرق في كتلة كل منهما حيث يدخل ناتج عمود التحليل ككل GC effluent الى أنبوبة زجاجية مسامية تحت تفريغ porous glass tube وعند دخول كل من العينة والغاز الى هذه الأنبوبة فان الغاز الحامل الخفيف الوزن مثل الهليوم سوف يمر خلال الأنبوبة الزجاجية fritted glass الى المنطقة المفرغة ويضخ خارج المطياف pumped away أما قابلية جزيئات العينة للمرور خلال المسام الصغيرة في الأنبوبة الزجاجية فانها تتناسب عكسيا مع كتلتها حيث أن هذه الجزيئات الصغيرة لها قابلية للمرور بدرجة أكبر من الجزيئات الكبيرة وعلى ذلك فان بعض جزيئات العينة الكبيرة الوزن الجزيئي سوف تفقد في هذا المقام ، ولذلك قل استخدام مثل هذه الوصلات شكل (٩-٦).

٤. خروج العينة من خلال غشاء منفذ Permeable membrane interface

وهنا تمر العينة مع الغاز من عمود التحليل لأعلى سطح غشاء مطاطي مصنوع من السليكون silicone rubber membrane الى غرفة تأين المطياف المفرغة على الجانب الآخر من الغشاء وهنا نجد أن الجزيئات العضوية تنفذ dissolve خلال هذا الغشاء وتنفذ خلال المنطقة المفرغة وتصل الى غرفة التأين بينما الغاز الخامل الغير عضوي لا ينفذ do not dissolve ويطرح الى الخارج في الهواء الجوي vented to atmosphere وبذلك نجد أن أساس هذه الوصلة تعتمد على نفاذ الجزيئات العضوية من خلال سطح الغشاء. شكل (٩-٧)



شكل (٩-٦) وصلة تدفق بخار العينة بين GC/MS
Effusive interface



شكل (٩-٧) وصلة الغشاء شبه المنفذ بين GC/MS

Permeable membrane interface

ويتميز هذا النوع من الوصلات بأنه سهل الاستخدام وغير مكلف ، كما ان مشاكل هــذه الوصــلة بســيطة حيــث لا يحــدث فيهــا انســداد clog كمــا يحــدث في حالــة jet orifice interface ولذلك تفضل هذه الوصلة على سائر الوصلات الأخرى عند تحليل المركبات العضوية باستخدام الأعمدة المعبأة .

ويمكن إجراء بعض التعديلات على هـذه الوصـلة لاستخدامها أيضا في حالـة الأعمدة الشعرية مثل اضافة وحدة make-up gas حيث يكون سريان الغاز ضئيل جدا في حالة هذه الأعمدة كما هو معروف ، ولكن بصفة عامة لايفضل استخدام تلك الوصلة مع الأعمدة الشعرية.

٥. تقسيم العينة بطريقة مباشرة Direct split interface

وهنا لا يتم ادخال العينة كلها بل يتم تقسيم العينـة بعد خروجها من عمـود التحليل والسماح لجزء منها بالدخول لجهاز مطياف الكتلة وطرح الجزء الآخر خارج الجهاز مع الهواء الجوي وهذا التقسيم يسمح بدخول كمية تلائم الضغط المطلوب لمطياف الكتلة.

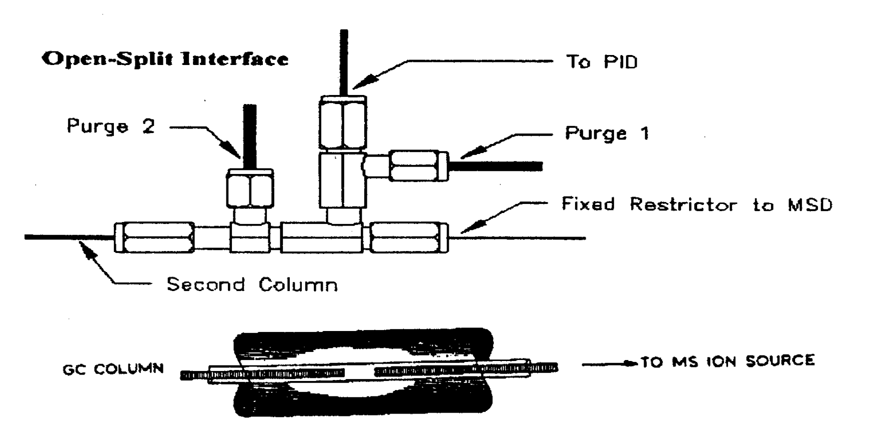
ولكن نسبة التقسيم splitting ratio تختلف أثناء برمجة درجة حرارة التحليل بسبب تغير لزوجة الغاز تبعا لتغير درجة الحرارة ولذلك فان هـذه الوصلة لا تتناسب مع التقديرات الكمية الدقيقة.

٦. التقسيم المفتوح للعينة Open split interface

ادى تطور أعمدة مصهور السليكا والحاجة الى تغيير الأعمدة المعتادة وكذلك تغيير ديناميكية الغاز عند الوصلة الى شيوع استخدام هذا النوع من الوصلات الذي يطلق عليه open split interface

وهنا وكما هو موضح بالرسم فى شكل (٩-٨) توضع طرف نهاية عمود التحليل WCOT column في خط محدد restrictor line يؤدي الى غرفة التأين في المطياف ويحاط بهذه الوصلة أنبوبة معدنية من الخارج تسمى sleeve surrounds ويتم دفع تيار بطيء من غاز الهليوم حول هذه الأنبوبة المعدنية الخارجية.

وهذا النوع من الوصلات جيد في الاستخدام لأنه تم فيه التغلب على المشاكل الموجودة في تقسيم العينة بطريقة مباشرة.



شكل (٩-٨) وصلة التقسيم المفتوح بين GC/MS

Open – split interface

ثالثا: نظام تفريغ الضغط Ion source vacuum system

وهنا يتم استخدام مجموعة متدرجة من المضخات vacuum pumps لعمل التفريغ اللازم فمثلا المضخة الأولى تعمل تفريغ من 760 torr حتى الوصول الى 10^{-1} torr ثم مضخة اخرى لزيادة التفريغ حتى 10^{-3} torr، ثم مضخة أخرى لزيادة التفريغ حتى 10^{-4} torr وهكذا

رابعا: مصدر التأين في مطياف الكتلة MS Ion source

يتم تأين الجزيئات داخل غرفة التأين حيث يتم فصل تلك الأيونات بعد ذلك ويجب اختيار مصدر التأين المناسب لكل عينة حيث توجد عدة طرق لتأين الجزيئات تتوقف اساسا على نوع العينة والغرض من التحليل كما سبق شرحه في جهاز مطياف الكتلة ، ويتم تأين العينة اما بالتصادم الأليكتروني أو التأين الكيميائي أو التأين بواسطة مجال كهربي.

ومصدر التأين له وظيفة مزدوجة هى تأين الجزيئات دون التفرقة بين كتل الأيونات المختلفة ثم اسراع أو تعجيل accelerating هذه الأيونات إلى وحدة تحليل الأيونات.

خامسا: وحدة فصل وتحليل الأيونات MS Mass analyzer

وهنا يتم فصل مخلوط الأيونات الناتجة من عملية التأين على أساس الاختلاف في نسبة m/e حتى يمكن رصد وتسجيل هذه الأيونات كل على حدة ويجب أن تكون عملية فصل الأيونات على درجة عالية من الدقة والتمييز وخاصة فى حالة الكتل المتقاربة جدا، وتوجد عدة أنظمة مختلفة فى فصل وتحليل الأيونات كما سبق شرحه مثل فصل الأيونات باستخدام المجال الناتج عن أربعة أقطاب كهربية أو إنحراف الأيونات في مجال مغناطيسي أو استخدام التركيز البؤري المزدوج أو فصل الأيونات بالتركيز البؤري الدائري.

شكل طيف الكتلة MS Spectrum

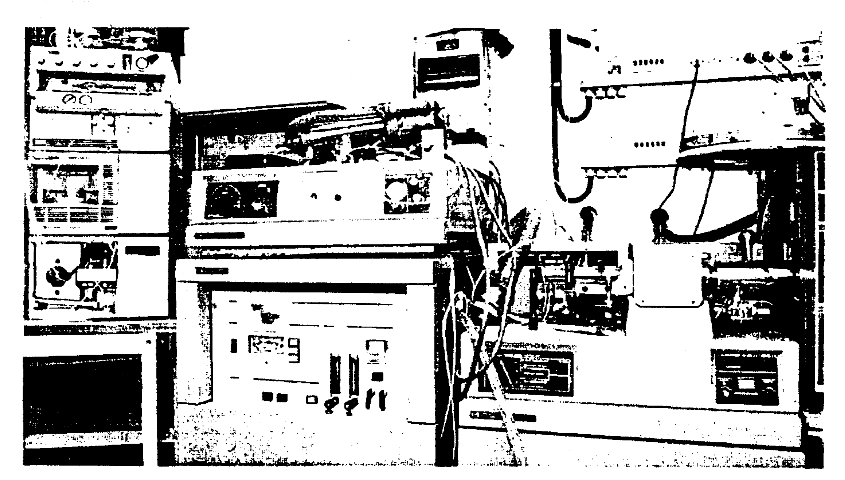
وفي النهاية نحصل على mass spectrum يتم تفسيره باستخدام الكومبيوتر Data Interpretation using computer system وذلك عن طريق وجود دليل لقيم زمن الاحتباس لكل مركب عند ظروف تحليل معينة compound retention time index

حيث يتم عمل بحث عن المركب بين البيانات الموجودة Library search ومقارنته بكل المركبات التي لها نفس الوزن الجزيئي والموجود لها رسم طيف كتلى mass spectrum موجود مخزن على الجهاز لكي نصل في النهاية الى التعرف على المركبات الموجودة في العينة compound identification وكذلك تقديرها كميا Quantification

جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل المزدوج مع جهاز مطياف الكتلة HPLC-MS

بعض المركبات لا يمكن تحليلها بواسطة جهاز GC-MS لأنها غير قابلة للتطاير او أن وزنها الجزيئي كبير مثل البوليمرات والبروتينات او أنها غير ثابتة حراريأ وتتحطم على درجات الحرارة المرتفعة مثل السكريات ولكن يمكن تحليلها بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل وعلى ذلك تم دمج جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل HPLC مع مطياف الكتلة MS في جهاز واحد يسمى HPLC-MS spectrometer وذلك عن طريق توصيل نهاية العمود في جهاز التحليل الكروماتوجرافي مع غرفة التأين ion source في جهاز مطياف الكتلة من خلال وصلة مشتركة interface كما شرحنا في جهاز GC-MS.

ويوضح شكل (٩-٩) جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل المزدوج مع مطياف الكتلة



شكل (٩-٩): جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل المزدوج مع مطياف الكتلة
High Pressure Liquid Chromatograph / Mass Spectrometer

وهنا المشكلة في حالة دمج جهاز التحليل الكروماتوجرافي السائل مع مطياف الكتلة تكون أكبر لأن العينة الناتجة من جهاز HPLC مذابة في مذيبات قطبية أو غير قطبية أو مخلوط من المذيبات وهنا يجب التخلص من تلك المذيبات قبل ادخال العينة الى غرفة التأين في جهاز مطياف الكتلة.

وتوجد طرق عديدة للتخلص من تلك المذيبات وادخال العينة في صورة بخارية الى غرفة التأين في مطياف الكتلة تشترك معظمها في امرار العينات على سخان Heater أو على سير ساخن Hot belt أو مبخر متوهج flash vaporizer أو دوارق مسخنة أو أنابيب مسخنة لتبخير المذيبات ، ثم يتم ادخال العينة خالية من المذيبات في صورة بخار الى غرفة التأين وكذلك عمل تفريغ للضغط.

وهنا أيضا يمكن استخدام جهاز التحليل الكروماتوجرافي بالسائل بالكامل ويتم عمل تقسيم لمسار العينة الخارجه من العمود الى جزئين splitting ، جزء منها يكمل المشوار الى بقية أجزاء جهاز HPLC للتقدير الكمي quantitative analysis والجزء الآخر يمرر على وسيلة التبخير المناسبة للتخلص من المذيبات وإدخالها إلى غرفة التأين في جهاز مطياف الكتلة من خلال وصلة interface لرسم طيف الكتلة للمركب mass spectrum

أو يسمح للعينة LC effluent كلها بالدخول من خلال فتحة تسرب ضئيلة جداً إلى غرفة تأين جهاز مطياف الكتلة وذلك بعد التخلص من المذيب وتحويلها إلى بخار.

مكونات الجهاز:

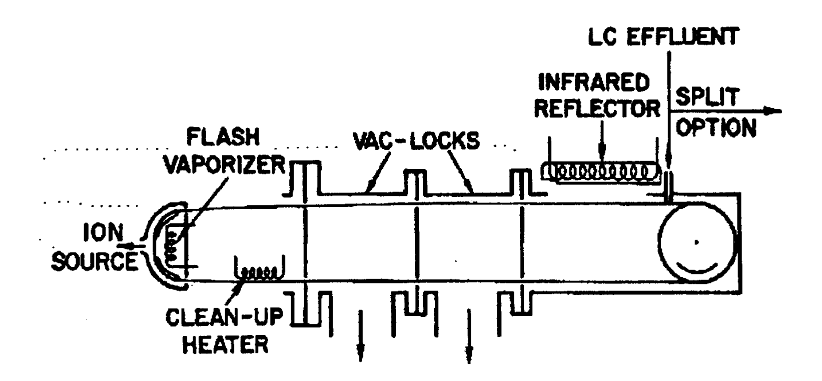
يوضح شكل (٩-١٠) الرسم التخطيطي لمكونات جهاز مطياف الكتلة Block diagram of HPLC/MS

وتتلخص مكونات جهاز HPLC/MS فى:

١- جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل: ويتم هنا عمل تقسيم لمسار العينة الخارجة من العمود بحيث تدخل جزء منها ويكمل المشوار إلى الكشافات المستخدمة فى HPLC أما الجزء الآخر يدخل إلى غرفة التأين الخاص بجهاز مطياف الكتلة.

٢- الوصلة بين الجهازين وهى عبارة عن مبخر Flash vaporizer.

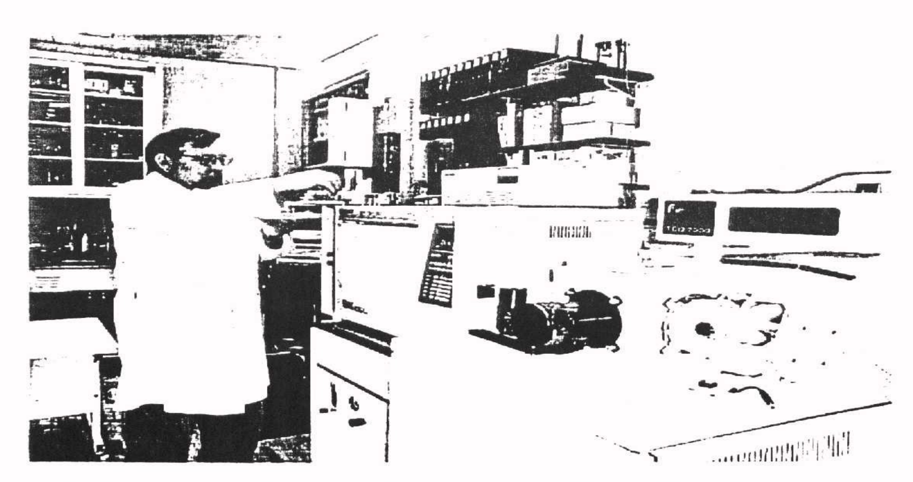
٣- غرفة التأين وبقية جهاز مطياف الكتلة.



شكل (٩-١٠) رسم تخطيطى لمكونات جهاز التحليل الكروماتوجرافى بالسائل المزدوج مع مطياف الكتلة Block diagram of HPLC/MS

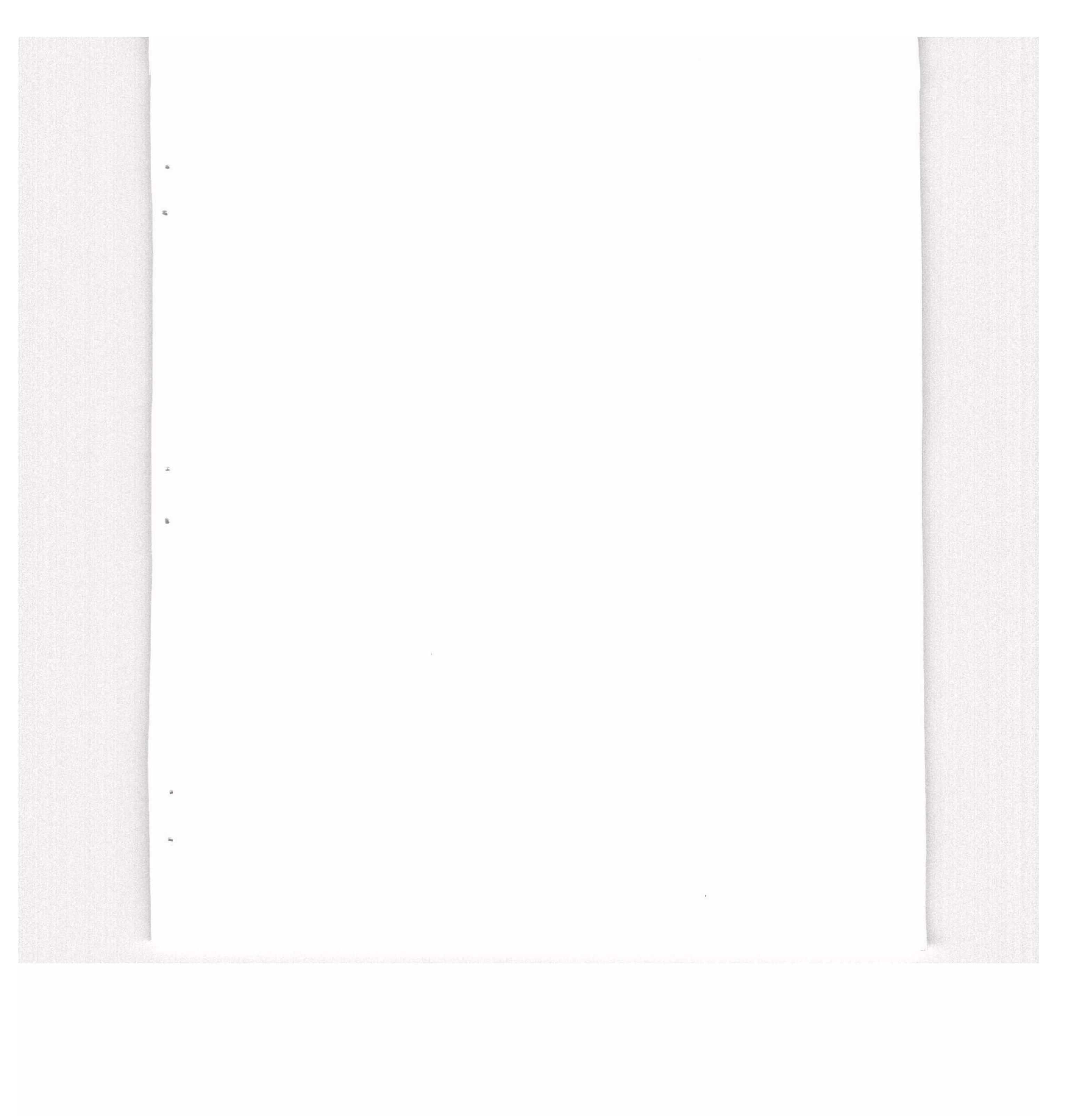
ويمكن كذلك استخدام جهاز LC-MS في التقدير الكمي للمركبات العضوية والحيوية والتي يصعب تحليلها بواسطة GC-MS وكذلك يمكن استخدامه كطريقة للتأكد من التحليل بواسطة كروماتوجرافيا السائل.

وحاليا أصبح يمكن دمج العديد من الأجهزة معا مثل الجهاز الموضح فى شكل (٩-١١) وهو عبارة عن GLC / HPLC / MS / MS



شكل (٩-١١) جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى المزدوج مع السائل ومطياف الكتلة

GLC / HPLC / MS / MS



الفصل العاشر

عمليات تحوير المبيدات في مجال التحليل

Chemical Derivatives in Pesticide Analysis

مقدمة:

يتم تحوير المركبات العضوية للتغلب على مشكلة عدم قابلية بعضها للتحليل بواسطة جهاز كروماتوجرافيا الغاز أو السائل أو عدم قابليتها أيضا للتحليل بواسطة جهاز مطياف الكتلة.

وتوجد طرق عديدة لتحوير المركبات العضوية ومن هذه الطرق مثلا ربطها بمجاميع السليكون ويطلق عليها silanization

أما عن أسباب عمليات التحوير في المركبات العضوية فهي تختلف باختلاف طريقة التحليل المستخدمة ، وبصفة عامة تتم عمليات التحوير للمركبات العضوية لغرضين أساسين هما:

أولا: زيادة الثبات الحراري وكذلك زيادة قدرة المركبات الغير متطايرة على التطاير حتى يمكن تحليلها بواسطة GLC , MS

ثانيا: تحسين عملية التحليل عن طريق زيادة حساسية المركبات للتحليل وزيادة حدود التقدير detection limit

عمليات التحوير الخاصة بالتحليل بواسطة كروماتوجرافيا الغاز

Derivatives for GC Analysis

من أهم أسباب التحوير للمركبات العضوية عن تحليلها بواسطة GLC هو تحسين خاصية التطاير volatilization للمركبات الغير قابلة للتطاير، فقد يكون ضعف قابلية المركبات للتطاير low volatility راجعة الى مجرد حجم الجزيئ مما يؤدي الى زيادة قوة

التجاذب بين الجزيئات وبعضها ، فنجد في الجزيئات الصغيرة أن قلة التطاير تعود الى قوى التجاذب الشديدة بين المجاميع القطبية

strong intermolecular attractions between polar groups

وهنا نجد أن عمليات الاشتقاق لا تفلح عندما تكون قوي التجاذب بين الجزيئات وبعضها كبيرة ولكنها تفلح في حالة التجاذب بين المجاميع الفعالة حيث يؤدي التحوير الى حجب المجاميع الفعالة masking of polar groups وبالتالي منعها من التجاذب معا مما يزيد من عملية التطاير بشكل كبير جدا.

المجاميع القطبية N-H, O-H, and S-H تكون فيما بينها رابطة هيدروجينية hydrogen bonding وهي المسئولة عن زيادة قوى التجاذب بين هذه المجاميع. وعند استبدال ذرة الهيدروجين في هذه المجاميع بمجموعة ألكيل أو مجموعة acyl او مجموعة silyl فان ذلك يؤدي الى زيادة قدرتها على التطاير وخاصة في حالة المركبات التي تحتوي على العديد من المجاميع القطبية.

السكريات الأحادية monosaccharide من المركبات الصغيرة الوزن الجزيئي نسبيا والتي لها قدرة ضعيفة على التطاير حتى عند درجة الحرارة التي يبدأ عندها السكريات الأحادية في التحطم decompose ولكن عند استبدال ذرات الهيدروجين فيها بمجاميع tri methyl silyl تعطي نواتج قابلة للتطاير وتصبح جاهزة للتحليل بواسطة كروماتوجرافيا الغاز.

الأمينات الصغيرة الوزن الجزيئي جدا تتطاير بدرجة عالية جدا الى الحد الذي يسبب مشاكل في تحليلها بكروماتوجرافيا الغاز حيث تخرج مع المذيب نفسه ولكن يمكن تحسين خاصية التطاير فيها بالتحويرات الكيميائية لتعطي مركبات أقل تطايرا حتى لا تفقد وحتى يمكن فصلها أو تمييزها عن منحنى المذيب الذي يظهر عند بداية الحقن في الجهاز.

أيضا بعض المركبات الحساسة جدا التي قد يحدث لها تحطم جزئي partial thermal decomposition على الرغم من أنها تتمتع بخصائص جيدة بالنسبة للتطاير فانه يمكن بعمل تحويرات كيميائية الحصول على نواتج أكثر ثباتا وبالتالي تحسين فصلها والحصول على منحنى حاد ومميز.

أيضا المنحنيات الغير متماثلة unsymmetrical peaks يمكن أن تظهر بسبب تأثير الادمصاص على عمود التحليل.

العينات القطبية تدمص على الأسطح الفعالة على جدار عمود التحليل وكذلك على المادة المالئة solid support ويمكن تقليل هذا الادمصاص بعمليات التحوير الكيميائية.

المركبات المتشابهة closely related compounds والتي يكون فصلها بواسطة التحليل الكروماتوجرافي الغازي رديئة، يمكن تحسين عمليات الفصل لها بعمليات الاشتقاق والتحوير أيضا.

وأيضا تتم عمليات التحوير والاشتقاق لزيادة حساسية طريقة التقدير متمثلة في زيادة حساسية المركبات وتقديرها بأقل كميات ممكنة detectability enhancement بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي ، فمثلا يمكن زيادة حساسية العديد من المركبات لكشاف ECD عند اضافة هالوجينات الى هذه المركبات halogenated derivatives حيث يمكن رصد الآثار الضئيلة منها بعد زيادة حساسيتها لهذا الكشاف باستبدال كلور أو بروم أو يود أو فلور عليها باستخدام acyl group ويمكن ترتيب زيادة الحساسية باستبدال الهالوجينات على النحو التالي I > Br > Cl > F على حسب زيادة قدرة الهالوجين على سحب الأليكترونات.

كما يمكن أيضا زيادة حساسية بعض المركبات الضعيفة الحساسية لهذا الكشاف باضافة مجاميع نيترو nitro group الى هذه المركبات.

كما أن استبدال مجاميع ساحبة للأليكترونات على حلقة البنزين يزيد من حساسيتها لكشاف ECD مثل المركبات التالية:

Pentafluoro benzyl ester
Pentafluoro benzyl oximes
Pentafluoro phenyl hydrazone

وتوضح الجداول التالية (١٠ — ١)، (١٠ — ٢)، (١٠ — ٣) زيادة حساسية المركبات لكشاف ECD بعد عمليات الاشتقاق المختلفة

جدول (١٠ – ١): مقارنة بين حساسية بعض مشتقات الكحولات والفينولات لكشاف ECD

Derivative	Compound			
	Thymol	Cholesterol	Testosterone	Testosterone
Acetyl	-	-	-	0.1
Monofluoroacetyl	0.007	-	-	-
Monochloroacetyl	0.3	-	0.20	4.0
Chlorodifluoroacetyl	-	2.08	1.41	34.
Trifluoroacetyl	-	0.09	0.01	0.4
Pentafluoropropionyl	1.3	-	0.28	5.
Heptafluorobutyryl	1.0	1.00	1.00	19.
Diheptafluorobutyryl	-	-	2.30	-
Perfluorooctanoyl	-	1.85	2.10	60.
Pentafluorobenzoyl	6.9	-	-	50.
Pentafluorobenzyl	5.9	-	-	-
Dinitrophenyl	0.3	-	-	-

جدول (١٠ – ٢): مقارنة بين حساسية بعض مشتقات الأمينات لكشاف ECD

Derivative	Amphctamine	Benzylamine	Phenethy lamine	Aniline
Acyl				
Trifluoroacetyl	< 0.1	1.0		
Monochloroacetyl	0.1	37.5		
Trichloroacetyl	54			
Pentafluoropropionyl	4	286		
Heptafluorobutyryl	9	894		670
Perfluorooctanoyl	23			
Pentafluorophenylacetyl			11	
Pentafluorobenzoyl	77		78	133
PTrifluoromethylbenzoyl	12			
Pentafluorobenzylidene			100	
Alkyl				
Pentafluorobenzyl			4.1	
Dipentafluorobenzyl			34	

جدول (١٠ – ٢): مقارنة بين التطاير النسبي والحساسية لكشاف ECD لسلسلة من مشتقات الكوليسترول

R=	Relative Retention Time	Least Detectable Amount (ng)
CF_3	1.17	-
$CF_3(CH_2)_2$	1.47	1500
$CF_3(CF_2)_2(CH_2)_2$	1.60	115
$ClCH_2$	2.50	75
C_6F_5	3.68	4
$C_6F_5CH_2CH_2$	-	200

عمليات التحوير الخاصة بالتحليل بواسطة مطياف الكتلة

Derivatives for MS Analysis

يتم التحوير هنا بغرض تقليل عمليات التحطم الحراري التي قد تحدث للمركبات العضوية حتى يمكن تقدير الوزن الجزيئي للمركب ككل.

كما ان الاشتقاق بواسطة مخلوط من المواد مع بعضها يعطي مجموعة من الأيونات تسهل التعرف على أنواع معينة من المركبات في مخلوطها أو التعرف على شظايا fragment معينة داخل المركب.

ايضا يمكن اجراء عمليات الاشتقاق بغرض تثبيت الأيونات الناتجة في جهاز مطياف الكتلة لتعطي شظايا معينة تفيد في اعطاء معلومات عن التركيب الكيماوي.

ايضا يتم الاشتقاق عند استخدام GC-MS لاعطاء مركبات لها أيون جزيئي قوي وواضح وكذلك تزداد الحساسية.

عمليات التحوير الخاصة بالتحليل بواسطة كروماتوجرافيا السائل

Derivatives for Liquid Chromatographic Analysis

بعض المركبات يكون امتصاصها في كشاف الأشعة فوق البنفسجية ضعيف جدا وهذا الكشاف هو أكثر الأنواع شيوعا في كشافات جهاز HPLC ولذلك يتم تحوير واشتقاق هذه المركبات بمفاعلاتها مع مجاميع لها امتصاص في مدى الأشعة فوق البنفسجية ليزيد من حساسيتها للتقدير.

أيضا يمكن اجراء تحويرات لزيادة فرصة استخدام كشاف آخر في جهاز HPLC وهو كشاف fluorometric detector لأن هناك مركبات عديدة غير حساسة لهذا الكشاف ولذلك يتم ربط هذه المركبات مع مجاميع fluorogenic group لزيادة حساسيتها للكشاف.

أنواع التحويرات والمشتقات في مجال التحليل

Derivative Types and Reagents

توجد أنواع عديدة من التفاعلات الكيماوية التي تستخدم في مجال عمليات الاشتقاق والتحوير لتحسين عمليات الفصل والتحليل.

ويمكن تقسيم هذه التفاعلات الى:

١- تفاعلات الاحلال محل ذرة الهيدروجين في المجاميع القطبية مثل مجاميع OH, SH, NH والتي يطلق عليها تفاعلات Replacement of active hydrogen in polar groups ومنها تفاعلات alkylation, acylation, silylation

٢- تفاعلات التكثيف التي تتم بين جزيئين من المركبات مع خروج جزيء ماء منهما.

مشتقات الألكيل Alkyl Derivatives

عند اضافة مجموعة الكيل لكل من OH, COOH, SH, NH, CONH نحصل على مشتقات أقل قطبية مثل ethers, esters, thioesters, thiolesters, N-alkyl amine, N-alkyl amides. حيث يتم احلال مجموعة الألكيل محل الهيدروجين في هذه المجاميع في وجود وسط قاعدي .

$$\text{Sample-OH} \xrightarrow[\text{Base}]{R-X} \text{Sample-O R} + HX$$

واضافة مجموعة الكيل باستخدام بروميد أو يوديد الألكيل لمجموعة حامضية ضعيفة يحتاج عامل مساعد مثل قاعدة قوية ، مجاميع الهيدروكسيل الأكثر حامضية مثل الفينولات والأحماض الكربوكسيلية تحتاج عوامل مساعدة من قواعد متوسطة القوة less strongly basic catalysts

$$Ar\text{-}OH + R_4N^+X^- \longrightarrow ArO^- R_4N^+ + HX$$

$$Ar\text{-}OR + R_4N^+X^- \longrightarrow ArO^- R_4N^+ + R\text{-}X$$

$$Sample\text{-}OH \xrightarrow{RN^+} Sample\text{-}OR + R_3N$$

$$Sample\text{-}OH \xrightarrow{(CH_3)_2N\text{-}CH(OR)_2} Sample\text{-}OR + ROH + DMF$$

$$Sample\text{-}OH \xrightarrow{CH_2N_2} Sample\text{-}OCH_3 + N_2$$

$$Sample\text{-}COOH + R\text{-}NH\text{-}N{=}N\text{-}C_6H_3CH_3 \longrightarrow Sample\text{-}COOR + N_2 + H_2N\text{-}C_6H_3CH_3$$

Silyl Derivatives مشتقات السليكون

$$Sample\text{-}OH + R_3Si\text{-}X \longrightarrow Sample\text{-}O\text{-}SiR_3 + HX$$

ويوضح جدول (١٠-٤) أمثلة لبعض المواد الكيماوية التي يمكن استخدامها في تكوين مشتقات السليكون

جدول (١٠ — ٤): المواد المستخدمة في إعطاء مجاميع السليكون

Reagent	Abbreviation	Structure
Hexamethyldisilazane	HMDS	
Trimethylchlorosilane (with base catalyst)	TMCS	$(CH_3)_3Si\text{-}Cl$
N-Methyl-N-trimethylsilyl-acetamide	MSA	
N-Trimethylsilyldiethylamine	TMSDEA	$(CH_3)_3Si\text{-}N(C_2H_5)_2$
N-Trimethylsilyldimethylamine	TMSDMA	$(CH_3)_3Si\text{-}N(CH_3)_2$
N-Methyl-N-trimethylsilyl trifluoroacetamide	MSTFA	
N,O-Bis(trimethylsilyl)-acetamide	BSA	
N,O-Bis(trimethylsilyl)-Trifluoroacetamide	BSTFA	
N-Trimethylsilylimidazole	TMSI	

مشتقات الأسيل Acyl Derivatives

يمكن الاشتقاق عن طريق عمل acylation للمجاميع القطبية السابق ذكرها بواسطة التفاعل مع acyl anhidried, acyl halide, acyl amide في وجود pyridine or tetrahydrofuran

المشتقات الناتجة عن تفاعلات التكثيف

Derivatives from Condensation Reaction

هذه التفاعلات تتم عن طريق ربط جزيئين معا وخروج الماء ، ويندمج تحت هذه التفاعلات عملية الأسترة التي تتم بين الأحماض الكربوكسيلية مع الكحولات حيث يتحد الاثنان ويخرج جزيء ماء.

يعتبر مركب Penta fluoro benzyl oximes من المشتقات الهامة جدا والحساسة لكشاف ECD

المـــــراجـــــع

المراجع العربية:

- حسن أبو السعود على (١٩٩٠) : أجهزة التحليل – دار الهدى للنشر
- عبد المنعم محمد الأعسر (١٩٨٧) : التحليـل الطيفـي للأنظمـة الكيميائيـة والبيوكيميائية – الدار العربية للنشر

المراجع الأجنبية:

Brown, P. R. (1973): High Pressure liquid chromatography. Biochemistry and biomedical applications. Academic Press, New York, London.

Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; and Williams, D.H. (1967): Mass spectrometry of organic compounds. Holden-Day, Inc., San Francisco, Cambridge, London, Amsterdam.

Dwek, R. A.; Campbell, I.D.; Richards, R. E.; Williams, R. J. P. (1977): NMR in biology. Academic Press, London, New York, San Francisco.

Ewing, G.W. (1975): Instrumental methods of chemical analysis. McGraw-Hill, Kogakusha, LTD.

Grob, R. L. (1977): Modern Practice of gas chromatography. John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto.

Parker, F. S. (1971): Application of Infrared spectroscopy in biochemistry, biology and medicine. Plenum Press, New York.

Huber, J. F. K. (1978): Instrumentation for high-performance liquid chromatography. Elsevier scientific publishing company, USA, Canada.

Johnson, E.L. and Stevenson, R. (1978): Basic liquid chromatography, Varian Associates Inc., California

Karasek, F.W. and Clement, R. E. (1988): Basic gas chromatography – mass spectrometry. Principles and techniques. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.

Pecsok, R. L and Shields, L.D. (1968): Modern Methods of chemical analysis. John Wiley & Sons Inc., New York, London, Sidney

Safe, S. and Hutzinger, O. (1973): Mass spectrometry of pesticides and pollutants, CRC Press, Cleveland, Ohio

Sanders, J.K.M. and Hunter, B.K. (1993): Modern NMR spectroscopy. A guide for chemists (2nd ed). Oxford University Press, Oxford, New York, Toronto.

Silverstein, R.M., Bassler, G.C. and Morrill, T.C. (1991): Spectrometric identification of organic compounds (5th ed.), John Wiley & Sons Inc., New Yourk, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

Smith, R. M. (1988): Gas and Liquid chromatography in analytical chemistry. John Wiley & Sons Inc., New Yourk, Toronto, Singapore.

Solomons, T.W. G and Fryhle, C.B. (2000): Organic Chemistry (7th ed). John Wiley & Sons Inc., New Yourk, Chichester, Weinheim, Brisbane, Toronto, Singapore.

Willard, H.H. ; Merritt, Jr. L. L.; Dean, J.A. (1974): Instrumental methods of analysis, 5th ed. D. Van Nostrand Company, New york, Cincinnati, Toronto, London, Melbourne.

Williams, D.H. and Fleming, I. (1966): Spectroscopic methods in organic chemistry, McGraw-Hill Publishing Company Limited, England.

المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة



مكتبة بستان المعرفة
لطباعة ونشر وتوزيع الكتب
كفر الدوار - الحدائق - بجوار نقابة التطبيقيين
☎: ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨ & ٠١٢١١١٥١٢٢٧